N° d'ordre : 257

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel LAMY

ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE DES PROTÉINES DE L'HÉMOLYMPHE CHEZ LES LÉPIDOPTÈRES.

Variations naturelles ou provoquées au cours de la croissance, de la métamorphose et de la reproduction.

Soutenue le juin 1969, devant la Commission d'Examen :

MM. M. LAFON, Professeur ..... *Président*

J.J. BOUNHIOL, Professeur .....
J. BARAUD, Professeur .....
J. GROULADE, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de GRENOBLE ..... } *Examinateurs*

— 1969 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547320_0029

N° d'ordre : 257

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Michel LAMY

ÉTUDE ÉLECTROPHORÉTIQUE DES PROTÉINES DE L'HÉMOLYMPHE CHEZ LES LÉPIDOPTÈRES.

Variations naturelles ou provoquées au cours de la croissance, de la métamorphose et de la reproduction.

Soutenue le juin 1969, devant la Commission d'Examen :

MM. M. LAFON, Professeur ..... *Président*

J.J. BOUNHIOL, Professeur .....
J. BARAUD, Professeur .....
J. GROULADE, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de GRENOBLE ..... } *Examinateurs*

— 1969 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Université
de
BORDEAUX

FACULTE DES SCIENCES

Doyen honoraire :

M. BRUS

Doyen : M. CALAS

Professeurs honoraires :

M. KASTLER	Professeur à la Sorbonne
M. PISOT	Professeur à la Sorbonne
Mle JOSIEN	Professeur à la Sorbonne
M. MILLOUX	
M. DANGEARD	
M. CAU	
M. GENEVOIS	

Professeurs :

M. BRUS	Chimie
M. AVEL	Zoologie et Physiologie animale
M. ROUSSET	Physique générale
M. ROGER	Mécanique rationnelle
M. WEILL	Anatomie comparée et Embryogénie
M. DUFRESNOY	Mathématiques générales
M. LAFON	Physiologie générale
M. BOUNHIOL	Biologie animale
M. SERVANT	Physique
M. CALAS	Chimie organique
M. GAY	Cristallographie et minéralogie
M. PACAULT	Chimie physique
M. SCHOELLER	Géologie
M. DAVID	Physiologie végétale
M. COLMEZ	Méthodes mathématiques de la physique
M. CAMBAR	Biologie animale
M. VIGNEAUX	Géologie
M. PANOUSE	Zoologie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. ARZELIES	Physique (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. RIBEREAU-GAYON	Oenologie et chimie agricole
M. RISS	Mathématiques
M. GUIZONNIER	Physique
M. HAGET	Zoologie expérimentale
M. SEMIROT	Astronomie
M. CHASTEL	Physique nucléaire
M. HAGENMULLER	Chimie minérale
M. CREAC'H	Biologie animale
M. LOUDETTE	Mécanique physique
M. PATY	Chimie
M. BORDES	Préhistoire
M. SECHET	Botanique
M. BAGANAS	Mathématiques
M. VALENTIN	Radioélectricité

M. ENNOUCHI..... Géologie
M. EYME..... Botanique
M. RUAMPS..... Physique électronique
M. FRAINNET..... Chimie organique
M. HOARAU..... Chimie physique
M. MARCHAND..... Chimie
M. LALANDE..... Chimie appliquée
M. GOTTIS..... Géologie dynamique
M. LEMANCEAU..... Chimie
M. CARDO..... Psychophysiologie
M. ROCH..... Physique
M. BELLON..... Chimie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. CLASTRE..... Cristallographie physique
M. JOUSSOT-DUBIEN..... Chimie
M. VALADE..... Chimie organique
M. SURDIN..... Automatique
M. LABOUESSE..... Biochimie
M. BLONDEL..... Mathématiques
M. SOURISSEAU..... Chimie
Mle FAURE-MURET..... Géologie (détachée à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. CLIN..... Géologie
M. LOCHET..... Physique
M. VINDT..... Biologie végétale
M. REGNIER..... Mathématiques
Mle LAFFITTE..... Physique
M. DESTRIAU..... Chimie
M. PETIT..... Physique corpusculaire
M. BARAUD..... Chimie biologique
M. EMBERGER..... Géologie
M. BOTHOREL..... Chimie
M. CHARRU..... Physique
M. SIMONOFF..... Chimie physique
M. LASCOMBE..... Chimie
M. RIMPAULT..... Physique théorique
M. BARETS..... Biologie animale
M. PINEAU..... Chimie
M. LEVEQUE..... Géologie approfondie
M. BOUSSEAU..... Physique
M. MENNRATH..... Physique
M. ANDRE..... Biologie générale
M. BOUAS-LAURENT..... Chimie organique
M. MARTINET..... Calcul infinitésimal
M. N..... Informatique

Maître de conférence honoraire :

M. DE PUYMALY

Maîtres de conférences :

M. RIBEREAU-GAYON Pascal..... Chimie oenologie
Mle DUTRIEU..... Physiologie animale
Mme PETIT..... Physique
M. BERNET..... Génétique
M. FRESNEL..... Mathématiques

M. MOYES..... Géologie
M. LUTZ..... Botanique
M. MOULINES..... Chimie
M. MENDES-FRANCE..... Mathématiques
M. POUCHARD..... Chimie minérale
M. SARDOS..... Physique
M. DUMERY..... Mécanique
M. GARNIER..... Biophysique
M. LESCA..... Mathématiques
M. ARTOLA..... Mathématiques
M. DRESS..... Mathématiques
M. BOUARD..... Biologie végétale
M. DE MAHTAN..... Mathématiques
M. ABGRALL..... Physique théorique
M. MINNAERT..... Physique théorique

Conseiller Administratif :

M. LLORENS

A V A N T - P R O P O S

Les recherches dont les résultats font l'objet de ce mémoire, ont été entreprises en 1961 au Laboratoire de Biologie animale de la Faculté des Sciences de BORDEAUX. Avant d'en commencer l'exposé, je veux remercier Monsieur le Professeur BOUNHIOL de m'en avoir suggéré l'idée. Spécialiste de l'endocrinologie des Insectes, il a éveillé mon intérêt pour la Biochimie, m'a conseillé, et facilité des séjours dans des Laboratoires spécialisés où j'ai pu accroître mes connaissances dans ce domaine. Je suis heureux aujourd'hui de lui exprimer ma sincère reconnaissance et respectueuse admiration.

Monsieur le Professeur LAFON m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon Jury. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mes remerciements respectueux et de ma profonde gratitude.

Je n'oublie pas le stage fructueux que j'ai effectué auprès de Monsieur le Professeur BARAUD au Laboratoire de Chimie biologique où j'ai pu, durant une année, me familiariser avec les techniques biochimiques. Je tiens à le remercier et à l'assurer de ma reconnaissance pour l'intérêt qu'il m'a toujours porté et les conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer.

Monsieur le Professeur GROULADE, malgré son éloignement et ses nombreuses activités, a bien voulu accepter l'invitation de la Faculté des Sciences de BORDEAUX à venir juger mon travail. Il m'a acceuilli au Laboratoire de Biochimie médicale qu'il dirige au Centre Hospitalier de GRENOBLE, et m'a guidé dans l'utilisation des techniques d'électrophorèse. Qu'il me soit permis de lui dire aujourd'hui le prix que j'attache à son jugement et les remerciements que je lui dois pour ses précieux conseils.

Messieurs les Professeurs AVEL, CAMBAR, CREAC'H, HAGET et WEILL ont participé, par leur enseignement, à ma formation scientifique. Je leur demande d'accepter l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

Mes Collègues du Laboratoire de Biologie animale, Messieurs CAVALLIN, DISCLOS, LAVENSEAU, REMY, VIEILLEMARINGE, et tout particulièrement Monsieur LAHARGUE dont l'aide me fut inestimable, ont, par des discussions fructueuses, bien souvent facilité mes recherches. Je tiens à leur exprimer mes remerciements amicaux.

Mademoiselle BLANC, Madame LESCA et Monsieur ROUX m'ont beaucoup aidé dans la réalisation matérielle de ce mémoire. Je les remercie de leur gentillesse et de leur dévouement.

A des titres divers, Mesdames BRUNET et COCULET, Messieurs LABERDESQUE, LARCHE et PEYRON ont droit à mes remerciements.

Enfin, c'est à ma Famille, à ma Femme et à mon Fils, que je dois d'avoir pu, dans la douce atmosphère d'un foyer calme et heureux, surmonter les découragements qui assaillent le chercheur, et réaliser ce travail. Qu'il soit pour eux la marque de ma tendre affection et de mon profond attachement.

--o-O-o--

S O M M A I R E

INTRODUCTION..... p. 1

HISTORIQUE..... p. 3

CHAPITRE I

MATERIEL D'ETUDE ET TECHNIQUES..... p. 31

I - MATERIEL D'ETUDE - ELEVAGE ET BIOLOGIE..... p. 31

A - BOMBYX MORI, LYMANTRIA DISPAR ET GALLERIA MELLONELLA..... p. 31

B - ANTHERAEA PERNYI, THAUMETOPOEA PITYOCAMPA ET PIERIS BRASSICAE..... p. 32

1° - Antheraea pernyi..... p. 32

2° - Thaumetopoea pityocampa..... p. 32

3° - Pieris brassicae..... p. 34

a - Les très jeunes chenilles..... p. 34

b - Les chenilles après la IVe mue. p. 34

c - Les papillons - La ponte..... p. 35

CONCLUSIONS..... p. 36

II - MATERIEL D'ELECTROPHORESE - PREPARATIONS..... p. 37

A - APPAREILS D'ELECTROPHORESE..... p. 37

1° - Les cuves..... p. 37

2° - L'alimentation..... p. 37

3° - Agitation et séchage..... p. 37

4° - Le photomètre..... p. 38

B - PREPARATIONS..... p. 38

1° - Des solutions-tampons..... p. 38

2° - Des antisérums..... p. 39

3° - Des échantillons à électrophoréser. p. 39

a - Prélèvement de l'hémolymphe.... p. 39

b - Centrifugation..... p. 40

c - Dilution..... p. 40

III - LES TECHNIQUES ELECTROPHORETIQUES..... p. 40

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 40

1° - Choix du tampon..... p. 40

2° - Séparation..... p. 41

3° - Coloration..... p. 41

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON..... p. 41

1° - Electrophorèse monodimensionnelle.. p. 41

2° - Electrophorèse bidimensionnelle.... p. 42

C - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE ET IMMUNO-ELECTROPHORESE..... p. 43

1° - Préparation des bandes..... p. 43

2° - Mise en place des bandes..... p. 43

3° - Dépôt de l'échantillon..... p. 43

a - Electrophorèse simple..... p. 44

b - Immuno-électrophorèse..... p. 44

4° - Séparation électrophorétique..... p. 44
5° - Immuno-électrophorèse..... p. 44
a - Application de l'antisérum.... p. 44
b - Immuno-diffusion..... p. 45
c - Elimination des protéines non précipitées..... p. 45
6° - Coloration des bandes et conservation..... p. 45
IV - FICHES D'EXPERIENCES..... p. 45

CHAPITRE II
ETUDE DE L'HEMOLYMPHE AU COURS DU CYCLE BIOLOGIQUE NORMAL..... p. 46
I - BOMBYX MORI..... p. 46
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 46
1° - Les protéines..... p. 46
2° - Glyco et lipoprotéines..... p. 47
B - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE p. 48
C - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON A UNE DIMENSION..... p. 48
CONCLUSIONS..... p. 49
II - GALLERIA MELLONELLA..... p. 50
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 50
1° - Les protéines..... p. 51
2° - Glyco et lipoprotéines..... p. 51
B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON..... p. 51
CONCLUSIONS..... p. 51
III - ANTHERAEA PERNYI..... p. 52
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 52
1° - Les protéines..... p. 52
2° - Glyco et lipoprotéines..... p. 53
B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON..... p. 53
CONCLUSIONS..... p. 53
IV - PIERIS BRASSICAE..... p. 54
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 54
1° - Les protéines..... p. 54
2° - Glyco et lipoprotéines..... p. 55
B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON..... p. 55
C - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE p. 56
D - IMMUNO-ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE..... p. 58
1° - Avec le sérum anti-chenille..... p. 58
2° - Avec le sérum anti-oeufs..... p. 59
CONCLUSIONS..... p. 59
V - LYMANTRIA DISPAR..... p. 60
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER..... p. 60
1° - Les protéines..... p. 60
a - Cycle des mâles..... p. 60
b - Cycle des femelles..... p. 60
2° - Glyco et lipoprotéines..... p. 61
B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON A UNE DIMENSION..... p. 63

1° - Cycle des mâles ..... p. 63
2° - Cycle des femelles ..... p. 63
CONCLUSIONS ..... p. 64
VI - THAUMETOPOEA PITYOCAMPA ..... p. 64
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER ..... p. 64
1° - Les protéines ..... p. 65
2° - Glyco et lipoprotéines ..... p. 65
B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON ..... p. 65
CONCLUSIONS ..... p. 66
VII - CONCLUSIONS ..... p. 66

CHAPITRE III
VARIATIONS DES PROTEINOGRAMMES AU COURS DU DEVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE MODIFIE EXPERIMENTALEMENT ..... p. 71
I - LE JEUNE ..... p. 72
A - BOMBYX MORI ..... p. 72
1° - Destinée des Vers ..... p. 72
2° - Etude de l'hémolymphe des jeûneurs. p. 73
B - LYMANTRIA DISPAR ..... p. 74
1° - Destinée des jeûneurs ..... p. 74
2° - Etude de l'hémolymphe des jeûneurs. p. 75
a - Electrophorèse sur papier ..... p. 75
b - Electrophorèse sur gel d'amidon p. 75
C - PIERIS BRASSICAE ..... p. 76
1° - Destinée des jeûneurs ..... p. 76
2° - L'hémolymphe des jeûneurs ..... p. 76
CONCLUSIONS ..... p. 77
II - LIGATURES ET ECEREBRATION ..... p. 79
A - BOMBYX MORI ..... p. 79
1° - Ligature entre tête et thorax ..... p. 79
a - Etude de l'hémolymphe des nymphes acéphales définitives ..... p. 80
b - Etude de l'hémolymphe des nymphes acéphales prolongées ..... p. 81
2° - Ligature entre le thorax et l'abdomen ..... p. 82
3° - Expériences de ligatures couplées .. p. 82
4° - Expériences d'écérébration ..... p. 82
a - de la chenille avant le filage. p. 82
b - de la chenille après le filage. p. 83
c - de la très jeune nymphe ..... p. 83
Conclusions ..... p. 84
B - LYMANTRIA DISPAR (Ligature tête/thorax). p. 85
1° - Destinée de ces Vers ..... p. 85
2° - L'hémolymphe des acéphalisés ..... p. 85
Conclusions ..... p. 86
C - PIERIS BRASSICAE ..... p. 86
1° - Ligature tête/thorax ..... p. 86
a - Destinée des acéphalisés ..... p. 86
b - L'hémolymphe des acéphalisés ... p. 86
2° - Ligature Th_1/Th_2 ..... p. 87
a - Destinée des ligaturés ..... p. 87

b - L'hémolymphe des chenilles en survie ..... p. 87
Conclusions ..... p 89
CONCLUSIONS ..... p. 89
III - MODIFICATION DU FILAGE ..... p. 91
A - DESTINEE DES ANIMAUX ..... p. 91
1° - Après ablation des deux glandes séricigènes ..... p. 91
a - Techniques ..... p. 91
b - Résultats ..... p. 92
2° - Après section des sériciductes ou cautérisation de la filière ..... p. 92
a - Techniques ..... p. 92
b - Résultats ..... p. 92
B - L'HEMOLYMPHE DES NYMPHES NE FILANT PAS ..... p. 93
1° - Cycle biologique non perturbé ..... p. 93
a - Ablation des deux glandes séricigènes ..... p. 93
b - Section des sériciductes et brûlure de la filière ..... p. 93
2° - Cycle biologique perturbé ..... p. 94
CONCLUSIONS ..... p. 95
IV - ABLATION DES CORPS ALLATES CHEZ BOMBYX MORI L. ..... p. 96
V - CONCLUSIONS ..... p. 97

CHAPITRE IV
PROTEINES IMPLIQUEES DANS LA GAMETOGENESE ..... p. 100
I - MISE EN EVIDENCE DE L'UTILISATION PAR LA GONADE DES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE ..... p 101
A - BOMBYX MORI ..... p. 101
1° - Rappel de l'évolution des témoins .. p. 101
a - Electrophorèse sur gel d'amidon p. 101
b - Electrophorèse sur papier ..... p. 102
2° - L'hémolymphe des Vers à soie privés de gonades ..... p. 103
a - Electrophorèse sur gel d'amidon p. 103
b - Electrophorèse sur papier ..... p. 103
B - LYMANTRIA DISPAR ..... p. 104
1° - Rappel de l'évolution des témoins .. p. 104
a - Electrophorèse sur gel d'amidon p. 104
b - Electrophorèse sur papier ..... p. 105
2° - Les protéines des gonadectomisés ... p. 105
a - Electrophorèse sur gel d'amidon p. 105
b - Electrophorèse sur papier ..... p. 105
C - PIERIS BRASSICAE ..... p. 106
1° - Rappel de l'évolution des témoins .. p. 106
a - Electrophorèse sur acétate de cellulose ..... p. 106
b - Immuno-électrophorèse ..... p. 107
2° - L'hémolymphe des Piérides castrées. p. 107
a - Electrophorèse sur acétate de cellulose ..... p. 107

- les femelles..... p. 108
- les mâles..... p. 108
b - Immuno-électrophorèse..... p. 108
CONCLUSIONS..... p. 109
II - LIEU DE SYNTHESE DES PROTEINES VITELLOGENES..... p. 109
A - LA PIERIDE DU CHOU..... p. 109
1° - Les techniques..... p. 110
a - Broyat de tissu adipeux..... p. 110
b - Essais de produits anti-hydrolysants chez les papillons femelles normaux..... p. 110
2° - Résultats..... p. 111
a - Les protéines du broyat de tissu adipeux..... p. 111
- par électrophorèse sur acétate de cellulose..... p. 111
- par immuno-électrophorèse.... p. 111
b - Après injection des produits anti-hydrolysants..... p. 112
Conclusions..... p. 113
B - LE VER A SOIE..... p. 114
C - LA SPONGIEUSE..... p. 115
CONCLUSIONS..... p. 115
III - CONTROLE ENDOCRINIEN DE LA VITELLOGENESE PROTEIQUE CHEZ PIERIS BRASSICAE L..... p. 115
A - LE JEUNE..... p. 116
1° - Technique..... p. 117
2° - Résultats..... p. 117
a - Papillon femelle à jeun..... p. 117
b - Papillon gonadoprive à jeun.... p. 117
B - L'ACEPHALISATION..... p. 117
1° - Technique..... p. 117
a - Chez les papillons femelles normaux..... p. 117
b - Chez les papillons femelles ovariectomisés..... p. 118
2° - Résultats..... p. 118
a - Papillons femelles normaux..... p. 118
b - Papillons femelles castrés..... p. 119
Conclusions..... p. 119
C - INJECTION D'HEMOCAPROL..... p. 119
1° - Chez les papillons normaux..... p. 119
2° - Chez les papillons mâles et femelles ligaturés T/Th 0 à 24 heures après l'émergence..... p. 120
Conclusions..... p. 120
D - INCUBATION DE TISSU ADIPEUX..... p. 120
1° - Technique..... p. 120
2° - Résultats..... p. 121
E - SECTION DE NYMPHES..... p. 122
1° - Technique..... p. 122
2° - Résultats..... p. 122

a - Nymphes de moins de 3 jours.... p. 122
b - Nymphes de plus de 3 jours..... p. 123
Conclusions..... p. 123
IV - CONCLUSIONS..... p. 124
V - DISCUSSION..... p. 124
A - LES PROTEINES ET LA REPRODUCTION DES LEPIDOPTERES..... p. 124
B - LES PROTEINES ET LA REPRODUCTION DES INSECTES..... p. 126
C - PLACE DE PIERIS BRASSICAE PARMI LES INSECTES..... p. 129

CONCLUSIONS GENERALES..... p. 131

BIBLIOGRAPHIE..... p. 134

--o-O-o--

I L L U S T R A T I O N

PLANCHE N° I - Appareils d'électrophorèse..... p. 36- 37
PLANCHE N° II - Choix d'un tampon pour électrophorèse sur papier..... p. 40- 41
PLANCHES N° III-IV - Electrophorèse sur gel d'amidon.. p. 41- 42
PLANCHE N° V - Techniques d'électrophorèse sur acétate de cellulose..... p. 42- 43
PLANCHE N° VI - Cycle électrophorétique de Bombyx mori normal (Electrophorèse sur papier)..... p. 45- 46
PLANCHE N° VII - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Bombyx mori (Electrophorèse sur papier)..... p. 46- 47
PLANCHE N° VIII - Cycle électrophorétique de Bombyx mori normal (Electrophorèse sur gel d'amidon) p. 47- 48
PLANCHE N° IX - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Bombyx mori (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 48- 49
PLANCHE N° X - Electrophorèse bidimensionnelle en gel d'amidon (Photo et schéma interprétatif) : chenille de Bombyx mori au filage.. p. 49- 50
PLANCHE N° XI - Cycle électrophorétique de Galleria mellonella normal (Electrophorèse sur papier)..... p. 49- 50
PLANCHE N° XII - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Galleria mellonella..... p. 50- 51
PLANCHE N° XIII - Cycle électrophorétique d'Antheraea pernyi (Electrophorèse sur papier)..... p. 51- 52
PLANCHE N° XIV - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe d'Antheraea pernyi..... p. 51- 52
PLANCHE N° XV - Cycle électrophorétique d'Antheraea pernyi normal (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 52- 53
PLANCHE N° XVI - Cycle électrophorétique de Pieris brassicae normal (Electrophorèse sur papier) p. 53- 54
PLANCHE N° XVII - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Pieris brassicae (Electrophorèse sur papier)..... p. 53- 54
PLANCHE N° XVIII - Cycle électrophorétique de Pieris brassicae normal (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 54- 55
PLANCHE N° XIX - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Pieris brassicae (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 54- 55
PLANCHE N° XX - Electrophorèse bidimensionnelle en gel d'amidon (Photo et schéma interprétatif) : nymphe de 5 jours de Pieris brassicae..... p. 55- 56

PLANCHE N° XXI - Cycle électrophorétique de Pieris brassicae normal (Electrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 55- 56
PLANCHE N° XXII - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Pieris brassicae (Electrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 55- 56
PLANCHE N° XXIII - Variations relatives (en %) des protéines de l'hémolymphe chez les papillons femelles témoins de Pieris brassicae..... p. 56- 57
PLANCHE N° XXIV - Cycle électrophorétique de Pieris brassicae normal (Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 57- 58
PLANCHE N° XXV - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Pieris brassicae (Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 58- 59
PLANCHE N° XXVI - Cycle électrophorétique de Lymantria dispar mâle normal (Electrophorèse sur papier)..... p. 59- 60
PLANCHE N° XXVII - Cycle électrophorétique de Lymantria dispar femelle normale (Electrophorèse sur papier)..... p. 60- 61
PLANCHE N° XXVIII - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Lymantria dispar (Electrophorèse sur papier)..... p. 60- 61
PLANCHE N° XXIX - Cycle électrophorétique de Lymantria dispar normal (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 62- 63
PLANCHE N° XXX - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Lymantria dispar (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 62- 63
PLANCHE N° XXXI - Electrophorèse bidimensionnelle en gel d'amidon (Photo et schéma interprétatif : nymphe femelle de Lymantria dispar.. p. 63- 64
PLANCHE N° XXXII - Cycle électrophorétique de Thaumetopoea pityocampa normal (Electrophorèse sur papier)..... p. 64- 65
PLANCHE N° XXXIII - Cycle électrophorétique de Thaumetopoea pityocampa (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 64- 65
PLANCHE N° XXXIV - Schémas interprétatifs des protéinogrammes de l'hémolymphe de Thaumetopoea pityocampa..... p. 64- 65
PLANCHE N° XXXV - Electrophorèse bidimensionnelle en gel d'amidon (photo et schéma interprétatif) : chenille au dernier âge de Thaumetopoea pityocampa..... p. 65- 66
PLANCHE N° XXXVI - Electrophorèses comparées..... p. 66- 67
PLANCHE N° XXXVII - Protéines, glyco et lipoprotéines de l'hémolymphe de quelques Lépidoptères.... p. 67- 68
PLANCHE N° XXXVIII - Protéines de l'hémolymphe des jeûneurs chez Bombyx mori (Electrophorèse sur papier)..... p. 73- 74

PLANCHE N° XXXIX - Protéines de l'hémolymphe des jeûneurs chez Lymantria dispar..... p. 74- 75
PLANCHE N° XL - Protéines de l'hémolymphe des jeûneurs chez Pieris brassicae (Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose..... p. 76- 77
PLANCHE N° XLI - Bombyx mori de la nymphe au papillon (Electrophorèse sur papier)..... p. 79- 80
PLANCHE N° XLII - Nymphes acéphales définitives chez Bombyx mori (Electrophorèse sur papier) p. 79- 80
PLANCHE N° XLIII - Nymphes acéphales prolongées chez Bombyx mori (Electrophorèse sur papier)..... p. 80- 81
PLANCHE N° XLIV - Expériences de ligature et d'écérébration chez Bombyx mori (Electrophorèse sur papier)..... p. 81- 82
PLANCHE N° XLV - Expériences de ligatures chez Lymantria dispar..... p. 84- 85
PLANCHE N° XLVI - Expériences de ligatures et broyats de tissu adipeux chez Pieris brassicae (Electrophorèse sur acétate de cellulose) p. 86- 87
PLANCHE N° XLVII - Variations du poids frais et de la teneur en eau (%) des témoins de la IVe mue à l'émergence, et des chenilles ligaturées Th_1/Th_2 chez Pieris brassicae..... p. 87- 88
PLANCHE N° XLVIII - Les protéines de l'hémolymphe et l'appareil séricigène chez Bombyx mori - Les protéines de l'hémolymphe des Vers à soie privés de corps allates (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 92- 93
PLANCHE N° XLIX - Les protéines de l'hémolymphe et l'appareil séricigène chez Lymantria dispar. p. 93- 94
PLANCHE N° L - Les protéines de l'hémolymphe et l'appareil séricigène chez Pieris brassicae. p. 93- 94
PLANCHE N° LI - Les protéines de l'hémolymphe et la reproduction (Schémas interprétatifs des protéinogrammes)..... p. 102-103
PLANCHE N° LII - Les protéines de l'hémolymphe et la reproduction chez Lymantria dispar (Electrophorèse sur gel d'amidon)..... p. 104-105
PLANCHE N° LIII - Les protéines de l'hémolymphe et la reproduction chez Pieris brassicae (Electrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 105-106
PLANCHE N° LIV - A - Variations relatives (en %) des protéines de l'hémolymphe chez des papillons femelles gonadectomisés de Pieris brassicae - B - Variations comparées de la protéine F (en %) chez des papillons femelles de Pieris brassicae soumis à diverses expériences..... p. 107-108
PLANCHE N° LV - Variations relatives (en %) des protéines de l'hémolymphe chez des papillons mâles témoins et gonadectomisés de Pieris brassicae..... p. 107-108

PLANCHE N° LVI - Rapport entre les protéines du tissu adipeux et celles de l'hémolymphe chez Pieris brassicae..... p. 110-111
PLANCHE N° LVII - Interprétation schématique des planches n° LVI et LVIII..... p. 118-119
PLANCHE N° LVIII - Section Th_1/Th_2 chez des nymphes de Pieris brassicae (Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)..... p. 122-123

--o-O-o--

INTRODUCTION

Les nombreux échecs observés lors de transfusions sanguines entre Vers à soie d'âges différents, sans doute imputables à des différences qualitatives ou quantitatives dans la composition chimique de l'hémolymphe, et en particulier des protéines qu'elle contient, ont conduit Monsieur le Professeur BOUNHIOL à nous confier le soin de faire, par électrophorèse sur papier, l'étude des protéines du sang de Bombyx mori au cours de son cycle de croissance.

Cette étude nous permit en effet (en 1961) de mettre en évidence les différences quantitatives des protéines de l'hémolymphe, différences qu'il était nécessaire de confirmer par des techniques plus sensibles telles que l'électrophorèse sur gel d'amidon à 1 ou 2 dimensions, ou l'électrophorèse sur acétate de cellulose.

Ces techniques devaient nous permettre d'établir une série d'électrophorégrammes témoins, caractéristiques de chaque stade et variant au cours du cycle biologique normal.

Un même ensemble de recherches fut mené sur cinq autres Lépidoptères : Galleria mellonella, Antheraea pernyi, Pieris brassicae, Lymantria dispar et Thaumetopoea pityocampa, Lépidoptères présentant des différences portant sur le comportement au filage, le moment de la diapause et le développement de la gonade.

Ce travail préliminaire fut la base indispensable à une étude expérimentale réalisée sur trois de ces six Lépidoptères : le Ver à soie, la Spongieuse et la Piéride du chou. Les résultats obtenus peuvent être groupés selon deux grands thèmes :

- Une évolution somatique anormale retentit-elle sur les protéines de l'hémolymphe ?

- Le développement de la gonade, et en particulier la vitellogenèse protéique, est-il ou non en rapport avec la protéinémie de l'hémolymphe ?

Le plan de notre mémoire sera donc le suivant : l électrophorèse ayant été réalisée sur de nombreux Insectes, un historique (résumé sous forme de tableau) précèdera l'exposé de nos recherches. Ensuite, après avoir décrit les modes d'élevage des Lépidoptères étudiés et les techniques électrophorétiques employées (chapitre I), nous donnerons les résultats obtenus pour les animaux normaux (chapitre II), puis pour les opérés (chapitres III et IV).

--o-O-o-o--

HISTORIQUE

La biochimie de l'hémolymphe des Insectes a fait l'objet de nombreux travaux analysés successivement par F. N. SCHULZ (1925), P. S. WELCH (1928), N. S. R. MALUF (1939), V. B. WIGGLESWORTH (1939-1944), R. CRAIG et W. M. HOSKINS (1940), J. TIMON-DAVID (1940-1941-1945), A. DRILHON et G. FLORENCE (1945), J. L. C. RAPP (1947), V. B. WIGGLESWORTH (1947-1950-1953), J. B. BUCK (1953), R. CHAUVIN (1949-1956), L. I. GILBERT et H. A. SCHNEIDERMAN (1961), D. GILMOUR (1961), G. R. WYATT (1961). Plus particulièrement, Y. KONDO (1959) et J. M. LEGAY (1960) indiquent les résultats obtenus chez le Ver à soie Bombyx mori, alors que M. FLORKIN (1959) puis P. S. CHEN (1966) analysent les travaux ayant trait au métabolisme des acides aminés et des protéines des Insectes au cours de leur développement. P. RAZET (1966) s'est intéressé plus spécialement aux éléments terminaux du catabolisme azoté.

Plus généralement, C. L'HELIAS (1964) étudie divers aspects chimiques en rapport avec les phénomènes endocriniens.

Les protéines de l'hémolymphe ont fait l'objet de dosages soit globalement (N total), c'est-à-dire décelant aussi les autres formes d'azote (N non protéique : N aminé, acide urique, etc...), soit seules (N protéique). Nous avons regroupé, sous forme de tableau, les Insectes pour lesquels de tels dosages ont été réalisés.

ORDRE	GENRE	AUTEURS
ODONATES	Aeschna	FLORKIN M. (1935) ; RAPER R. et SHAW J. (1948)
	Libellula	FLORKIN M. (1935)
DICTYOPTERES	Leucophaea	TODD M. E. (1958) ; ENGELMANN F. et PENNEY D. (1966)
	Periplaneta	THOMAS K. K. et NATION J. L. (1966)
ORTHOPTERES	Acheta	NOWOSIELSKI J. W. et PATTON R. L. (1965)
	Carausius	FLORKIN M. (1936) ; L'HELIAS C. (1957)
	Chortophaga	LUDWIG D. (1950) ; TASSONI J. P. (1957)
	Gomphocerus	LOWER V. H. (1965)
	Locusta	CLARKE K. V. et GILLOTT C. (1967) ; TOBE S. S. et LOUGHTON B. G. (1967)
	Nomadacris	ROSEDALE J. L. (1945)
	Schistocerca	HILL L. (1962)
COLEOPTERES	Agelastica	FLORKIN M. (1935)
	Dytiscus	FLORKIN M. (1935)
	Exochomus	ROSEDALE J. L. (1945)
	Hydrophilus	FLORKIN M. (1935-1936-1937)
	Melolontha	FLORKIN M. (1935)
	Oryctes	FLORKIN M. (1935)
	Popillia	ANDERSON J. M. (1948) ; LUDWIG D. (1954)
	Scobius	ROSEDALE J. L. (1945)
	Tenebrio	EVANS A. G. (1934) ; MORDUE W. (1955) ; Mc MORAN (1959)
	Timarcha	FLORKIN M. (1937)
MEGALOPTERES	Sialis	BEADLE L. C. et SHAW J. (1950)
TRICHOPTERES	Limnophilus	FLORKIN M. (1935)

ORDRE	GENRE	AUTEURS
LEPIDOPTERES	Acanthopsyche	ROSEDALE J. L. (1945)
	Antheraea	DEM'YANOVSKAYA N. S. et SOKOL'SKAYA A. (1943) DEMJANOVSKII S. Y. et FILIPPOVICH Y. B.(1959)
	Argyroploce	ROSEDALE J. L. (1945)
	Bombyx	FLORKIN M. (1935-1936-1937) ; ROSEDALE J. L. (1945) ; CHENG K. et TANG P. S. (1947) ; TARASEVICH L. M. (1952) ; ALLEGRET P. (1955) ; INAGAMI K. (1955) ; WYATT G. R. et Coll. (1956) ; TANAKA S. et SHIMIZU I. (1957) ; MAMEDNIYAZOV O. N. et Coll. (1962) ; SRIDHARA S. et ANANTHASAMY T. S. (1963) ; KAWASE S. et HAYASHI Y. (1965) ; NAKASONE S. et KOBAYASHI M. (1965)
	Deilephila	HELLER J. (1924) ; MOKLOWSKA A. (1929) ; HELLER J. et MOKLOWSKA A. (1930)
	Dicranura	FLORKIN M. (1935)
	Ephestia	EGELHAAF A. (1966)
	Euproctis	FLORKIN M. (1935)
	Galleria	NIEMIERKO W. et Coll. (1950) ; ZIELINSKA Z. M. (1952-1957) ; WYATT G. R. (1956) ; EDWARDS J. S. et FIORE C. (1966) ; JANDA J. et Coll. (1966)
	Malacosoma	RUDOLES W. (1926) ; STAMM M. D. (1962)
	Pieris	JUNNIKKALA E. (1966) ; CLARET J. (1968)
	Samia	DRILHON A. et FLORENCE G. (1945) ; CHEFURKA W. (1953) ; TASSONI J. P. (1957) ; LAUFER H. (1960-a) ; CHAI C. H. (1964) ; TAKAHASHI S. (1964)
	Saturnia	FLORKIN M. (1935)
	Vanessa	FLORKIN M. (1935)

ORDRE	GENRE	AUTEURS
DIPTERES	Aedes	LANG C. A. et Coll. (1965)
	Calliphora	SAPAG-HAGAR M. et STAMM M. P. (1961) ; AGRELL I. P. S. et LINDH N. O. (1966)
	Chrysomyia	ROSEDALE J. L. (1945)
	Culex	CHEN P. S. (1959)
	Drosophila	CHEN P. S. (1956)
	Gastrophilus	LEVENBOOK L. (1950)
	Lucilia	EVANS A. C. (1932) ; ROSEDALE J. L. (1945)
	Musca	DELVECCHIO R. J. (1955)
	Phormia	ORR C. W. (1964)
HYMENOPTERES	Apis	BISHOP G. H. et Coll. (1925) ; STAMM M. D. (1963)
	Bombus	FLORKIN M. (1936)
	Diprion	WYATT G. R. et Coll. (1956)
	Pollistes	STAMM M. D. et ALVAREZ J. (1963)
HEMIPTERES	Oncopeltus	TERANDO M. L. et FEIR D. (1966)
	Pyrrhocoris	SLAMA K. (1964) ; BRETTSCHNEIDEROVA Z. (1966) ; JANDA V. (1968)
	Rhodnius	COLES G. C. (1965)

Par les techniques biochimiques classiques, V.DUCCESCHI (1902), G. H. BISHOP et Coll. (1925), M. FLORKIN et J. GOMEZ (1939), M. FLORKIN et G. DUCHATEAU (1943), K. INAGAMI et Y. SUDO (1951), M. C. LEONARDI (1956), J. ODA (1956-1957), N. M. SYSAKYAN et M. K. VĒINOVA (1958) fractionnent les protéines de l'hémolymphe et en donnent les caractéristiques physico-chimiques.

Ce n'est qu'à partir de 1953 que les techniques immuno-chimiques, électrophorétiques, immuno-électrophorétiques, et chromatographiques sont utilisées pour séparer les diverses protéines contenues dans l'hémolymphe. Les premiers travaux publiés semblent être ceux de W. H. TELFER et C. M. WILLIAMS (1953) par immunodiffusion sur agar, F. J. BOWEN et B. A. KIRBY (1953), Ch. WUNDERLY et H. GLOOR (1953) par électrophorèse.

L'article de P. S. CHEN (1966) laissant dans l'ombre (car renvoyant aux travaux de WYATT (1961) tout ce qui a été fait ces dernières années par les techniques précédemment énumérées, il nous a paru intéressant de constituer, dans la mesure du possible une sorte de répertoire permettant de connaître, pour un Insecte donné .

1° - Les techniques employées pour séparer les protéines de son hémolymphe. Ces techniques sont les suivantes (nous donnons à titre indicatif quand il est précisé, le nom de l'auteur de la technique) :

a - Immuno-diffusion sur agar : O. OUCHTERLONY (1958) et A. G. CROWLE (1961).

b - Electrophorèse

selon A. TISELIUS (1937) ;

- sur papier : W. CRASSMANN et K. HANNIG (1950-1952), R. J. BLOCK et Coll. (1956) ;

en gélose : P. GRABAR et C. A. WILLIAMS (1953) ou K. V. GIRI (1956) ;

en gel d'amidon : technique initiale de O. SMITHIES (1955-1959) adaptée ou modifiée par M. D. POULIK (1957)

ou J. M. FINE et Coll. (1958) ;

- sur acétate de cellulose, selon C. J. BRACKEN-BRIDGE (1960) ou J. KOHN (1960) ;

- en gel d'acrylamide : "Disc electrophoresis" de B. J. DAVIS et L. ORNSTEIN (1962), de H. C. Mc ALLISTER et Coll. (1963), de J. T. CLARKE (1964), de S. RAYMOND et Coll. (1959), de R. A. REISFELD et Coll. (1962).

c - Immuno-électrophorèse

- sur agar : J. HIRSCHFELD (1960) ;

- sur gel d'amidon : M. D. POULIK (1959-1964).

d - Chromatographique par échangeur d'ions (sur DEAE cellulose), selon E. A. PETERSON et H. A. SOBER (1956).

2° - Le ou les stades (et sexes) du cycle de développement qui ont fait l'objet de ces séparations.

3° - Les résultats obtenus pour chaque technique, âge ou sexe, étant bien entendu qu'il s'agit d'un résumé indiquant chaque fois le nombre de fractions protéiques séparées, leur variation, s'il y a eu coloration des éléments associés à ces protéines (glucides et lipides), si ces protéines ont une activité enzymatique ("enzymologie"), leur point isoélectrique, etc... Il ne s'agit là que des résultats résumés pour des animaux normaux ("témoins"). Nous signalons par le mot "opéré" indiqué dans la colonne des "stades étudiés" et par une * mise à côté de la référence, que des conditions expérimentales particulières ont eu (ou non) une répercussion sur les protéines de l'hémolymphe, répercussion qui sera ultérieurement analysée et confrontée avec nos propres résultats.

Les Insectes étudiés appartiennent aux Ordres suivants :

- Dictyoptères ;
- Orthoptères ;
- Coléoptères ;
- Lépidoptères ;
- Diptères ;
- Hyménoptères ;
- Anoploures ;
- Hémiptères.

DICTYOPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL
Blaptica dubia	Electroph. sur papier	Adultes et parasités	3 fractions - La n° 1 diminue de concentration chez les infestés par Serratia marcescens	(10)
Blatta orientalis	Electroph. sur papier	Adulte ♀	3 fractions protéiques décelables	(15)
Blatella germanica	Electroph. sur papier	Adulte	3 fractions protéiques - Différence sexuelle quantitative (fraction migrant le plus moins concentrée chez le mâle)	(17)
Leucophaea maderae	Electroph. sur acétate de cellulose	Femelle adulte pendant la vitellogenèse et "opérés"	9 fractions protéiques dont 2 principales et une troisième apparaissant au début de la vitellogenèse	(5)* (6)*
	Electroph. sur gel d'acrylamide		7 fractions décelables chez la femelle adulte à l'émergence - 12 chez celle ayant fait sa vitellogenèse	
	Immuno-électroph.		6 antigènes chez la femelle. Le 6e est présent dans l'oeuf	
Nauphoeta cinerea	Electroph. sur gel d'acrylamide	Larve ♀ dernier âge et adulte (♀ et ♂)	13 fractions protéiques au maximum. La n° 5 est présente dans l'oeuf. Lipo., glyco. et chromoprotéines étudiées	(1)*
Periplaneta americana	Electroph. sur papier	?	6 fractions protéiques. Lipoprotéines étudiées	(4)
		Adulte ♀ et ♂	2 fractions protéiques. La 2e plus concentrée chez la femelle	(15)* (17)
		Cycle complet du développement	3 fractions protéiques (n° 1 à 3). 1 et 2 varient au cours du cycle de développement. 2 apparaît avant la mue, disparaît ensuite. 3 plus abondante chez la ♀	(13) (14) (16)
			5 fractions protéiques (I à V). N° III plus importante chez la ♀. Eléments associés. Point isoélectrique	(12)
		Adultes témoins et parasités	3 fractions protéiques. La n° 1 diminue de concentration chez les parasités par Pseudomonas seruginosa et Serratia marcescens	(10)

Periplaneta americana	Electroph. sur papier	Cycle de reproduc. "opérés"	4 fractions protéiques. La n° 2 en rapport avec le cycle ovarien est présente dans les oeufs	(8)*
			Etude spéciale des glycoprotéines	(7)
	Elect. sur gel d'amidon	Adulte	7 fractions migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(20)
	Elect. sur acétate de cellulose	Adulte ♀ pdt vitel. "opérés"	5 fractions protéiques. La n° 5 en rapport avec le développement de l'ovaire	(18), (19)*
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Cycle complet du développt	22 fractions dont 11 varient au cours du cycle biologique. Glyco. et lipoprotéines étudiées	(3)
		Adulte ♀ "opérés"	9 fractions. La n° 4 est liée au cycle de la reproduction	(2)*
		Adulte ♀	15 fractions protéiques dont 6 sont présentes dans l'oeuf	(9)
		Adulte ♂ Parasité	Différence qualitative entre protéines des témoins et des parasités par un Protozoaire cilié (Tetrahymena)	(11)
14 espèces	Electroph. sur papier	?	5 fractions protéiques différentes - 3 par espèce. But taxonomique	(16)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) K. G. ADIYODI - 1967 ; (2) K. G. ADIYODI et K. K. NAYAR - 1966 ; (3) C. BARRY - 1965 ; (4) E. W. CLARK et G. E. BALL - 1956 ; (5) F. ENGELMANN - 1965-1966 ; (6) F. ENGELMANN et D. PENNEY - 1966 ; (7) H. LIPKE et Coll. - 1965 ; (8) M. MENON - 1963 ; (9) D. J. NIELSEN et R. M. MILLS - 1968 ; (10) S. SAUERLANDER et P. EHRART - 1961 ; (11) G. R. SEAMAN et N. L. ROBERT - 1968 ; (12) A. N. SIAKOTOS - 1959-1960 (13) A. L. STEINHAUER - 1958 ; (14) A. L. STEINHAUER et W. P. STEPHEN - 1959 ; (15) W. P. STEPHEN - 1956 ; (16) W. P. STEPHEN - 1961 ; (17) W. P. STEPHEN et A. L. STEINHAUER - 1957 ; (18) K. K. THOMAS - 1965 ; (19) K. K. THOMAS et J. L. NATION - 1966 ; (20) J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962

ORTHOPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL.
Acheta domesticus	Electroph. sur gel d'acrylamide	Larves des 2 derniers âges et adultes	22 fractions protéiques. Différences quantitatives entre larves et adultes. Etude des éléments associés à ces protéines	(12)
Dolichopoda geniculata	Electroph. sur acétate de cellulose	6 stades larvaires	Nombreuses fractions protéiques. Différences pour stade et sexe	(10)
Locusta migratoria	Electroph. sur gélose	Adultes ♀ et ♂ "opérés"	5 fractions migrent vers l'anode, 3 vers la cathode	(9)*
	Electroph. sur gel d'amidon	Cycle complet du développt	Jusqu'à 19 fractions protéiques. La fraction n° 14 apparaît avant la mue, disparaît ensuite	(8)
		ler âge	15 fractions divisées en trois : I - protéines vitellines disparaissant après Ie mue ; II - protéines apparaissant au ler âge et persistant toute la vie ; III - protéines apparaissant en fin de ler âge alors que celles du groupe I disparaissent.	
		Cycle complet du développt	17 fractions décelables : 4 dans l'oeuf, 5 chez la larve du ler âge, 10 du 2e, etc... Différence sexuelle qualitative au 4e âge	(3)
	Electroph. sur acétate de cellulose	Témoins et "opérés"	3 fractions protéiques. La 1re et la 3e sont constantes alors que la 2e varie de concentration	(2)*
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Adultes ♀ et ♂ de 15 à 20 jours	Normaux ♀ : 23 protéines migrent vers l'anode ; ♂ : 21 seulement, n° 12 et 16 étant absentes. Albinos ♀ : 20 protéines (n° 7, 12 et 16 manquent) ; ♂ : 22 fractions (n° 9 et 11 plus étalées que chez ♀)	(6)
		Cycle complet du développt	Jusqu'à 17 fractions protéiques semblables du 2e âge à la nymphose. Glyco. et lipoprotéines étudiées.	(11)

Locusta migratoria	Immuno-diffusion	Cycle complet du développ.	5 fractions précipitent. La n° 3 est présente chez la ♀ adulte, la larve du 1er âge et dans l'ovaire	(11)
	Filtration sur Sephadex + électroph.	Nymphe du 5e âge	3 fractions protéiques, hétérogènes par électrophorèse	(5)
Schistocerca gregaria	Electroph. selon TISELIUS	?	3 fractions protéiques. La plus lente porte un pigment jaune-verdâtre	(1)
	Electroph. sur papier	Adulte ♀ pendant la reproduction	3 fractions protéiques. La n° 2 augmente pendant le développement de l'ovaire. La fraction 1 porte un pigment jaune, la 2 un pigment bleu-vert	(4)
	Electroph. sur acétate de cellulose	Adulte mâle	8 fractions protéiques dont : - au repos, 2 seulement sont lipoprotéiques ; - en période de vol, 4 le sont	(7)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) F. J. BOWEN et B. A. KIRBY - 1953 ; (2) K. V. CLARKE et C. GILLOT - 1967 ; (3) E. J. DUKE - 1966 b ; (4) L. HILL - 1962 ; (5) B. G. LOUGHTON et A. S. WEST - 1968 ; (6) R. MARTY et J. P. ZALTA - 1967 b ; (7) R. J. MAYER et D. J. CANDY - 1967 ; (8) F. W. McCORMICK et A. SCOTT - 1966 ; (9) A. K. MINKS - 1965-1967 ; (10) E. ONESSO et Coll. - 1966 ; (11) S. S. TOBE et B. G. LOUGHTON - 1967 ; (12) C. M. WANG et R. L. PATTON 1968

COLEOPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL
Arthonomus grandis	Electroph. sur acétate de cellulose	Cycle complet du développt	14 protéines au maximum, dont 8 migrent vers la cathode. Plusieurs sont communes à tous les stades, 1 est typique de la larve, 1 de la nymphe. Lipo. et glycoprotéines étudiées.	(8)
A. grandis grandis et A. grandis thurberiae	Immuno-diffusion	?	3 arcs de précipitation. 2 sont communs aux 2 sous-espèces	(5)
Curculio pondalis	Electroph. sur papier	Larve	5 fractions protéiques. But taxonomique	(2)
Dytiscus marginalis	Electroph. sur gélose	Larve ?	4 fractions migrent vers l'anode (celle migrant le moins est la plus importante), 1 vers la cathode	(4)
	Electroph. sur gel d'amidon	Adulte	1 fraction importante migre vers l'anode. Entre cette fraction et le dépôt, une protéine diffuse	(3)
Lichnanthe rathvoni	Electroph. sur papier	Cycle complet du développt	3 fractions protéiques. La plus distale disparaît chez les nymphes âgées. 2 fractions également chez l'adulte	(10) (11)
Melolontha melolontha	Electroph. sur papier	Larve 3e âge	2 fractions protéiques (A, B). Point isoélectrique déterminé	(6)
Phyllophaga fusca	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	5 fractions protéiques migrent vers l'anode et sont seules visibles	(13)
Pleocoma minor	Electroph. sur papier	Adulte ♀	3 fractions protéiques. 1 migre vers la cathode	(10)
Pleocoma oregonensis	Electroph. sur papier	Larve et adulte ♀ et ♂	Aux 2 ou 3 fractions décelables chez la larve s'ajoute, chez l'adulte, une fraction migrant vers la cathode. Cette fraction est plus concentrée chez le o	(11)

Popillia japonica	Diverses techniques	Témoins et parasités	1 fraction principale glyco. et lipoprotéique. Diminution de concentration quand parasités par Bacillus popilliae	(1)
Tenebrio molitor	Electroph. sur papier	Cycle complet du développt	2 fractions protéiques. Celle migrant le plus varie de concentration et est abondante dans l'oeuf	(9)
	Electroph. sur gélose	Larve ?	1 fraction très concentrée migre vers la cathode, 6 vers l'anode (celle migrant le moins est la plus importante)	(4)
	Electroph. sur gel d'amidon	Cycle complet du développt	10 à 14 fractions protéiques. Les n° 7 et 15 sont respectivement caractéristiques des stades nymphe et adulte. La n° 13 est liée à la sexualité	(7)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Larves (2 dern. stades)	21 fractions protéiques. Etude des éléments associés	(12)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) G. BENNET et Coll. - 1968 ; (2) I. BREZNER - 1958-1960 ;
(3) J. M. DENUCE - 1957 ; (4) J. M. DENUCE et M. RABAEY - 1957 ;
(5) B. GLICK et N. MITLIN - 1968 ; (6) A. KRIEG - 1956 ;
(7) A. M. LAVERDURE - 1968 ; (8) N. MITLIN et Coll. - 1967 ;
(9) D. S. PO-CHEDLEY - 1959 ; (10) W. P. STEPHEN - 1956 ;
(11) W. P. STEPHEN et A. L. STEINHAUER - 1957 ; (12) C. M. WANG et R. L. PATTON - 1968 ; (13) J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962

LEPIDOPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL
[illegible]	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	8 fractions protéiques migrent vers l'anode, 4 vers la cathode	(55)
Bombyx mori	Electroph. selon TISELIUS	Larve et nymphe	3 fractions protéiques chez la larve, 2 chez la nymphe	(4)
	Electroph. sur papier	De la IVe mue à l'émergence "opérés"	Le nombre de fractions décelées varie entre 2 et 4. Les auteurs japonais mettent en évidence une protéine M propre au sexe femelle et apparaissant au moment du filage	(1 à 3) (11) (1[illegible]) (20) (2[illegible]) (26) (37 à 3[illegible]) (41 à 44)
		Larve 5e âge	3 fractions migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(16)
	Electroph. sur gélose	De la IIe mue à l'émergence	5, puis 6 fractions protéiques chez les larves du 3e âge à la fin du dernier âge ; 4, puis 2 au cours de la nymphose et chez le papillon	(45)
	Electroph. sur gel d'amidon	De la IIIe mue à la nymphose	1 fraction principale et une dizaine de fractions secondaires migrent vers l'anode, une seule vers la cathode	(11 à 1[illegible])
		Larve du dernier âge	8 à 9 fractions migrent vers l'anode, une ou deux vers la cathode. Certaines de ces fractions disparaissent chez les parasités par Bacillus thuringiensis	(17)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	De la IIe mue à l'émergence	4 fractions (3e âge), 6 (4e âge), 10 (5e âge et nymphose) migrent vers l'anode. Aucune vers la cathode. Chez le papillon, 8 de ces 10 fractions persistent alors qu'une apparaît vers la cathode.	(36)
			Comparaison entre les protéines de l'hémolymphe et celles de divers tissus	(21)
Celerio euphorbiae	Electroph. sur papier	Larve Ovaires Oeufs	5 fractions protéiques (I à V) : 4 dans l'oeuf (V absente)	(40*)

Eacles imperialis	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	3 migrent vers la cathode, 7 (dont 1 chromoprotéine) vers l'anode	(55)
Ephestia kühniella	Electroph. sur papier	Broyat de larve Nymphe Papillon	2 fractions protéiques chez larve, nymphe et papillon ♂ ; 3 chez le papillon ♀	(47)
	Electroph. sur gel d'amidon et acétate de cellulose	Larve à adulte	5, puis au moins 9 fractions en fin de dernier âge. Fraction n° 2 caractéristique de la larve, n° 3 de la larve et de la nymphe. Peu de fractions chez l'adulte	(19)
Estigmene [illegible]	Electroph. selon TISELIUS	Larve	Au moins 4 fractions protéiques séparables	(8)
Euproctis chrysorrhoea	Electroph. sur papier	Broyat de larve Nymphe	3 fractions protéiques	(47)
Galleria mellonella	Electroph. sur papier	Larve dernier âge	2 fractions protéiques (A et B) A devient très importante au filage. B est une chromoprotéine. Groupes SH liés à ces deux protéines	(9) (11) (13)
	Electroph. sur gélose	Fileur	[illegible] fractions migrent vers [illegible] ou 3 vers la cathode	(13)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve dernier âge	[illegible] fraction principale (et quelques secondaires) au début du dernier [illegible] chez les fileurs [illegible] migrante au dépôt)	(10 à 13)
			3 fractions migrent vers la cathode, 10 vers l'anode	(55)
		Fileur à [illegible]	1 protéine migre vers la cathode, 7 (dont 2 disparaissent pendant la nymphose) vers l'anode "Enzymologie"	(18) (22)
	Electroph sur gel d'acrylamide	Larve dernier âge	14 fractions protéiques. Etude des éléments associés aux protéines	(33)

Hyalophora cecropia	Immuno-diffusion	Cycle complet du développ-	9 arcs de précipitation au maximum. 5 sont toujours présents ; un 6e apparaît après la IVe mue et disparaît chez l'adulte. L'antigène n° 7 apparaît chez ♀ et ♂ après le filage, 10 fois plus concentré chez la ♀. Il est présent dans l'oeuf	(50*) (51)
	Electroph. sur gel d'amidon	Du 3e âge au stade adulte	4 fractions principales (n° 1 à 4) migrent vers l'anode. La fraction 1 migre le plus et est très concentrée, sauf chez l'adulte et dans l'oeuf où l'on trouve surtout les fractions 3 et 4. Une protéine voisine de la 3 est plus concentrée chez la ♀. Après la diapause nymphale, une protéine migrant vers la cathode apparaît. "Enzymologie". Contrôle par immuno-diffusion sur agar	(28) (29) (31)
		Nymphes en diapause "opérés"	8 protéines, 1 supplémentaire apparaissant normalement chez l'adulte, devient visible chez les nymphes blessées	(5) (6)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Nymphe en diapause	11 protéines sont séparées	(5) (6)
	Ultracentrifugation + Electroph.	Nymphe	3 classes de Lipoprotéines ; hétérogènes en électrophorèse	(52)
Hyphantria cunea	Electroph. sur gélose	Temoin et parasité	Des 3 fractions protéiques, 2 puis 3 diminuent de concentration au cours de l'infestation par virus	(54)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	6 protéines migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(55)
Hyponomeuta padella	Electroph. sur papier	Broyat de larve Nymphe Adulte	2 fractions protéiques chez larve et adulte, 3 chez nymphe	(47)
Lymantria dispar	Electroph. sur papier	Larve ou Adulte ?	2 ou 4 fractions ?	(27)

Macroglossum stellatum	Electroph. sur papier	Broyat d'adulte	2 fractions protéiques	(47)
Macrothylacea rubi	Electroph. sur papier	?	2 fractions protéiques visibles	(14)
		Chenille en repos hivernal	2 fractions protéiques chez la larve se nourrissant, 6 quand l'animal ne se meut plus, dont une va envahir toutes les autres	(16)
	Electroph. sur gélose	?	5 protéines migrent vers l'anode, 2 ou 3 vers la cathode	(14)
		Larve du 5e âge	1 fraction migre vers l'anode (glycoprotéine), 1 vers la cathode (lipoprotéine)	(16)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve du 5e âge	6 fractions migrent vers l'anode, deux vers la cathode	(16)
		Larve ?	3 fractions migrent vers l'anode	(10)
Malacosoma americanum	Electroph. sur gel d'amidon	Jeune larve et nymphe	1 fraction migre vers la cathode, 3 à 5 vers l'anode. Après la D. M., 5 fractions nouvelles migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(55)
		De l'oeuf à l'adulte	Le nombre de fractions migrant vers l'anode passe de 11 (larves) à 13 (nymphes), puis à 8 (adultes) et à 5 (oeufs)	(34)
	Immuno-diffusion	De l'oeuf à l'adulte	6 antigènes. Certains décelables dans divers tissus, mais absents des glandes salivaires	(34)
	Chromatographie Immuno-diffusion + électr.	Larve du dernier âge	5 fractions protéiques. Chacune est caractérisée par 1 ou plusieurs antigènes. Point isoélectrique déterminé	(33)
			3 fractions protéiques. Hétérogènes par électrophorèse	(35)
Malacosoma neustria	Electroph. sur papier	Larve Nymphe Papillon	2 fractions chez larve et papillon ♂, 3 chez nymphe et papillon ♀	(46)
Ostrinia nubilalis	Electroph. sur gel d'acrylamide	Prénymphe et nymphe (diapause)	11 fractions migrent vers l'anode. 7 sont glycoprotéiques, 3 lipoprotéiques	(7)*

Papilio zelicaon	Electroph. selon TISELIUS	Larve	Au moins 4 fractions protéiques séparables	(8)
Phragmatobia fuliginosa	Electroph. sur papier	?	1 fraction importante, 2 ou 3 mineures	(14)
	Electroph. sur gélose	?	1 fraction importante et 2 ou 3 mineures migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(14)
Pieris brassicae	Electroph. sur papier	Larve	2 fractions protéiques	(25)*
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve du dernier âge Parasité	7 fractions protéiques migrent vers l'anode ; classées en 4 groupes. Variations chez témoin et parasité par Apanteles glomeratus	(25)*
Pieris rapae	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	4 fractions protéiques migrent vers l'anode, 2 vers la cathode	(55)
Protoparce quinquemaculata	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	6 fractions migrent vers l'anode (1 chromoprotéine), 1 vers la cathode	(55)
		Cycle complet du développt	Le nombre de fractions migrant vers l'anode varie de 3 à 15 ; vers la cathode, de 1 à 3	(23)*
Protoparce sexta	Electroph. selon TISELIUS	Larve	5 fractions protéiques	(8)
Rothschildia orizaba	Electroph. sur gel d'amidon	Nymphe en diapause et adulte	12 ou 14 fractions migrent vers l'anode, 4 vers la cathode. Certaines de ces protéines se trouvent dans le tissu adipeux et l'ovaire	(34)*
	Immuno-diffusion	Nymphe en diapause Adulte	6 antigènes au maximum, certains décelables dans divers tissus, aucun dans le coeur	(34)*
	Chromatographie + Immuno-diffusion	Nymphe en diapause	4 fractions protéiques séparées Chacune est caractérisée par 1 ou plusieurs antigènes. Point isoélectrique déterminé	(33)

Samia cynthia	Electroph. sur gel d'amidon	Du 3e âge à adulte	4 fractions principales chez les larves (migrent vers l'anode), 2 seulement chez les nymphes mâles diapausiques, et 3 chez les nymphes ♀. Différence quantitative entre papillon ♂ et ♀. "Enzymologie". Contrôle par immuno-diffusion sur agar	(29) (30) (31)
Schizura concinna	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	6 fractions migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(55)
Smerinthus cerisyi	Electroph. sur papier	Adulte ♀	3 fractions protéiques, dont 1 migre vers la cathode	(48)
		Adulte ♂ et ♀ Oeuf	2 protéines dans l'oeuf, 3 dans l'hémolymphe des papillons Différences entre mâles et femelles	(49)
Thaumetopoea pityocampa	Electroph. sur papier	Larve en repos hivernal	2 fractions principales : "la plus distale est la plus importante, la première est parfois double". Pas de changement pendant le repos hivernal	(16)
Vanessa polichlosos	Electroph. sur papier	Broyat d'adulte	2 fractions protéiques	(47)
Vanessa urticae	Electroph. sur gel d'amidon		1 fraction principale chez la larve, 2 chez la nymphe	(12) (13)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) K. AIZAWA - 1955 ; (2) K. AIZAWA et S. MURAI - 1957 ; (3) K. AIZAWA et Coll. - 1960 ; (4) S. AKUNE et T. FUKUNAGA - 1959 ; (5) S. J. BERRY - 1966 ; (6) S. J. BERRY et Coll. - 1964 ; (7) G. M. CHIPPENDALE et S. D. BECK - 1966 (8) E. W. CLARK et G. H. BALL - 1956 ; (9) J. M. DENUCE - 1955-1956 ; (10) J. M. DENUCE - 1957 ; (11) J. M. DENUCE - 1958 a ; (12) J. M. DENUCE - 1958 b ; (13) J. M. DENUCE - 1959 ; (14) J. M. DENUCE et M. RABAEY - 1957 ; (15) A. DRILHON - 1954 ; (16) A. DRILHON - 1959 ; (17) A. DRILHON et C. VAGO - 1960 ; (18) J. S. EDWARDS et C. FIORE - 1966 ; (19) A. EGELHAAF - 1966 ; (20) Ju. B. FILIPPOVICH et M. I. ALIEVA - 1967 ; (21) Ju. B. FILIPPOVICH et L. I. SHCHEGOLENAVA - 1967 ; (22) C. FIORE et J. S. EDWARDS - 1965 ; (23) A. HUDSON - 1966 ; (24) K. INAGAMI - 1954 ; (25) E. JUNNIKALA - 1966 ; (26) M. KOBAYASHI et K. KOMATSU - 1956 ; (27) A. KRIEG - 1956 ; (28) H. LAUFER - 1959 ; (29) H. LAUFER - 1960 a ; (30) H. LAUFER - 1960 b ; (31) H. LAUFER - 1963 ; (32) H. LAUFER - 1964 ; (33) B. G. LOUGHTON - 1965 ; (34) B. G. LOUGHTON et A. S. WEST - 1965 ; (35) B. G. LOUGHTON et

A. S. WEST - 1968 ; (36) S. NAKASONE et M. KOBAYASHI - 1965 ; (37) J. ODA - 1959 - VIII ; (38) J. ODA et Coll. - 1956 ; (39) Y. OHI - 1961 ; (40) M. J. PIECHOWSKA - 1965 ; (41) G. REALI - 1955 ; (42) S. SASAKI et J. ODA - 1955 ; (43) H. SHIGEMATSU - 1958 ; (44) N. M. SISAKYAN et M. K. VEINOVA - 1955 ; (45) S. SRIDHARA et T. S. ANANTHASAMY - 1963 ; (46) M. D. STAMM - 1962 ; (47) M. D. STAMM - 1964 ; (48) W. P. STEPHEN - 1956 ; (49) W. P. STEPHEN et A. L. STEINHAUER - 1957 ; (50) H. TELFER - 1954 (51) H. TELFER et C. M. WILLIAMS - 1953 ; (52) K. K. THOMAS et L. I. GILBERT - 1968 ; (53) C. M. WANG et R. L. PATTON - 1968 ; (54) A. WATANABE - 1967 ; (55) J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962

DIPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL.
[illegible] affinis	Electroph. sur gel d'amidon	Larve 4e âge	2 fractions protéiques. Point isoélectrique déterminé	(2)
Calliphora erythrocephala	Electroph. sur papier	Cycle complet du développ-	2 fractions protéiques varient quantitativement au cours du cycle. Point isoélectrique de celle migrant le plus	(26)
	Electroph. sur gel d'acrylamide		Etude comparée avec autres Insectes	(3)
		Broyat de nymphe du dernier âge	Etude des protéines neutres et basiques. Ces dernières spéciales à la zone abdominale	(1)
		Larves différents âges	12 fractions protéiques dont 3 sont plus importantes. Identité avec celle du tissu adipeux	(24)
Ceratitis capitata	Electroph. sur papier	Broyat de larve, nymphe, adulte	2 fractions protéiques chez larve et adulte ; 3 chez la nymphe	(27)
Chironomus plumosus	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	8 hémoglobines dans l'hémolymphe des petites larves, 10 dans celle des grandes	(23)
Chironomus thummi	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	4 hémoglobines sont isolées	(7)
Chrysomia albiceps	Electroph. sur papier	Broyat de larve, nymphe, adulte	2 fractions protéiques chez larve et adulte ; 3 chez nymphe	(27)
Culex pipiens	Electroph. selon TISELIUS	Broyat d' adulte	Au moins 4 fractions protéiques décelables	(15)
	Electroph. sur papier	Larve de 8 à 14 jours	1 seule fraction, de plus en plus concentrée. Concentration supérieure chez C. fatigans. Point isoélectrique	(10)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	4 fractions protéiques visibles	(9) (11)

Culex pipiens (suite)	Electroph. sur gel d'acrylamide	Larve	9 ou 10 protéines chez C. p. fatigans, 10 ou 11 chez C. p. molestus	(12)
	Immuno-diffusion sur agar	Broyat larve, nymphe, oeufs	Précipitation (avec sérum antilarve de 4e âge) de 4 arcs chez larve de 4e âge, 3 chez nymphe, 1 ou 2 chez larve jeune, aucun chez larve de 1er âge et oeufs	(30)
Diverses espèces de moustiques	Electroph. sur papier		Etude systématique	(16)
Drosophila Lebei et melanogaster	Electroph. sur papier	Larves normales léthales	2 fractions protéiques. Différences quantitatives entre normales et léthales	(8) (29)
Drosophila melanogaster	Electroph. sur papier	Larve Adulte (DDT)	4 fractions protéiques. Le pouvoir de détoxication ne peut être attribué à l'une d'elles	(25)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	7 fractions protéiques. Etude de la correspondance avec électrophorèse sur papier	(9) (11)
		Cycle complet du développt	1 fraction migre vers la cathode, 2 à 9 vers l'anode. 3 fractions dans l'oeuf	(18)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Larve et nymphe	3 ou 8 fractions protéiques séparées selon technique (bande ou disque). Variation de ces fractions en fonction de l'âge. Association avec éléments marqués	(5) (6)
		Larves parasitées	Une dizaine de fractions protéiques. La n° 5 augmente de concentration alors que la 8 diminue, chez les parasités par Pseudeucoïla	(14)
		Broyat	Après précipitation par solution saturée de sulfate d'ammonium (20, 30... 80 %), les diverses fractions révèlent jusqu'à 36 protéines. Etude génétique	(20)
	Immuno-diffusion		Une dizaine d'antigènes. Rapport avec génotype	(19)

Drosophila virilis	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	Après précipitation par solution saturée de sulfate d'ammonium, très nombreuses fractions classées pour étude génétique	(21)
Drosophila (7 espèces)	Electroph. sur gel d'amidon	Larve du dernier âge	6 à 11 fractions protéiques selon les espèces. Rapport avec configuration chromosomique	(17)
Musca domestica	Electroph. sur papier	Broyat larve, nymphe, adulte	2 fractions protéiques chez larve et adulte, 3 chez nymphe	(27)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	Selon le pH du tampon phosphate 3 à 5 fractions protéiques sont décelables.	(2)
	Electroph. sur gel d'acrylamide Immuno-diffusion et Immuno-électroph.	Adulte ♂ et ♀	11 fractions protéiques. La n° 4 augmente de concentration au cours de la maturation de l'ovaire, mais ne se trouve pas dans l'oeuf. A l'émergence, pas de différence entre ♂ et ♀. Confirmation immunochimique de ces résultats	(4)
Phormia regina	Electroph. sur papier	Adulte ♀	3 fractions protéiques	(28)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve, oeuf	3 fractions principales et 3 secondaires migrent vers l'anode. Protéines différentes dans l'oeuf	(22)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Cycle complet du développt	Jusqu'à 19 protéines migrent vers l'anode. Variation du nombre de ces fractions en fonction de l'âge	(13)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) I. P. S. AGRELL et N. O. LINDH - 1966 ; (2) J. S. BARLOW - 1962 a ; (3) C. BARRY - 1965 ; (4) R. P. BODNARYK et P. E. MORRISON - 1966-1968 ; (5) J. B. BOYD - 1966 ; (6) J. B. BOYD et H. K. MITCHELL - 1966 ; (7) G. BRAUNITZER et V. BRAUN - 1965 ; (8) P. S. CHEN - 1956 ; (9) P. S. CHEN - 1959 a ; (10) P. S. CHEN - 1959 b ; (11) P. S. CHEN - 1960 ; (12) P. S. CHEN - 1967 ; (13) P. S. CHEN et L. LEVENBOOK - 1966 a - b ; (14) P. S. CHEN et H. WEIDELI - 1968 ; (15) E. W. CLARK et G. H. BALL - 1956 ; (16) J. P. DUFFY - 1958 ; (17) E. J. DUKE - 1966 a ; (18) E. J. DUKE et E. PANTELOURIS - 1963 ; (19) A. S. FOX et S. B. YOON - 1957 ; (20) J. L. HUBBY - 1963 ; (21) J. L. HUBBY et L. THROCKMORTON - 1965 ; (22) H. LAUFER - 1963 ; (23) C. MANWELL - 1966 ; (24) G. PRICE et T. BOSMAN - 1966 ; (25) S. PUSCHMANN 1961 ; (26) M. SAPAG-HAGAR et M. P. STAMM - 1961 ; (27) M. D. STAMM - 1964 ; (28) W. STEPHEN - 1956 ; (29) C. WUNDERLY et H. GLOOR - 1953 ; (30) V. ZAMEN et W. T. CHELLAPPAH - 1963

HYMENOPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL.
Apis mellifica	Electroph. sur papier	Larve Ouvrière	4 fractions protéiques (dont 2 chromoprotéiques) chez la larve, 3 chez l'ouvrière (1 chromoprotéine)	(7)
	Electroph. sur gel d'amidon	Larve de 36 à 168 h	Différence entre castes : reine (6 à 10 fractions) et ouvrière (10 à 13 fractions)	(4)
	Immuno-diffusion sur agar	Broyat	Comparaison des antigènes de l'animal entier, avec venum, glande à venum, etc... et divers autres hymenoptères	(5)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	8 fractions protéiques dans broyat entier ; 4 dans le venum ; 9 dans la glande à venum	(6)
Arge pectoralis	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	7 fractions protéiques migrent vers l'anode, 1 vers la cathode	(12)
Bombus huntii et B. occidentalis	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	9 fractions protéiques ; 4 dans la glande à venum	(6)
Chilo simplex	Electroph. sur papier	Larve	3 fractions protéiques	(11)
Formica polyctena	Electroph. sur papier	Dernier âge à adulte	2 fractions protéiques migrent vers l'anode chez la larve, 4 ou 5 chez la prénymphe et la jeune nymphe, 3 seulement chez les nymphes âgées. Au filage, 1 fraction migre vers la cathode	(7)
	Electroph. sur gel d'amidon	9 stades différents	4 à 6 fractions migrent vers l'anode. Protéines identiques chez reines ou ouvrières, mais variations au cours des stades étudiés. Spécificité de castes	(2)
Neodiprion lecontei	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	1 fraction migre vers la cathode, 6 à 10 vers l'anode selon les "clones" considérés	(12)
Neodiprion maurus	Electroph. sur gel d'amidon	Larve	1 fraction migre vers la cathode, 8 vers l'anode	(12)

Neodiprion sertifer	Electroph. sur papier	?	2 ou 4 fractions séparées	(3)
	Electroph. sur gel d'amidon	?	1 fraction migre vers la cathode, 6 vers l'anode	(12)
Neodiprion virginianus	Electroph. sur gel d'amidon	?	1 fraction migre vers la cathode, 6 à 8 vers l'anode, selon les "clones" considérés	(12)
Polystes apachus	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	9 fractions protéiques ; 4 dans le venum, 8 dans la glande à venum	(6)
Polystes gallicus	Electroph. sur papier	Broyat ouvrière	2 protéines solubles. Dans l'abdomen, 1 pigment jaune associé à la protéine migrant le plus	(10)
Pristiphora erichsonii	Electroph. sur gel d'amidon	Pré-nymphe et parasité	3 ou 4 fractions séparables selon le tampon utilisé ; mobilité variable. Diminution de concentration chez parasité par Mesoleius t. M.	(1)
Vespa vulgaris	Electroph. sur papier	Broyat Adulte	3 fractions protéiques	(9)
Vespula arenaria	Electroph. sur gel d'amidon	Larve et pré-nymphe	1 à 2 fractions migrent vers la cathode, 7 à 13 vers l'anode	(12)
	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	12 fractions protéiques ; 6 dans le venum, 8 dans la glande à venum	(6)
Vespula pensylvania	Electroph. sur gel d'acrylamide	Broyat	8 fractions protéiques ; 1 dans le venum, 6 dans la glande à venum	(6)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire

(1) J. S. BARLOW - 1962 a - b ; (2) H. BRUNNERT - 1967 ; (3) A. KRIEG - 1956 ; (4) T. P. LIU et S. E. DIXON - 1965 ; (5) R. O'CONNOR et R. ERICKSON - 1965 ; (6) R. O'CONNOR et Coll. - 1964 ; (7) G. H. SCHMIDT - 1965 ; (8) M. D. STAMM - 1963 ; (9) M. D. STAMM - 1964 ; (10) M. D. STAMM et J. ALVAREZ - 1963 ; (11) K. TATSUYAMA et T. MIURA - 1959 ; (12) J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962

ANOPLOURES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL.
Pediculus humanus	Electroph. sur papier	Adulte ♂ et ♀ et infecté	3 fractions protéiques chez la ♀, 1 seule chez le ♂. Modification des protéines, différente selon le mode d'infection par Rickettsia prowazicki	(1)

BIBLIOGRAPHIE : Référence détaillée en fin de Mémoire.

(1) Ch. SERIE et Coll. - 1956

HEMIPTERES	TECHNIQUES	STADES ETUDIES	RESULTATS	BIBL.
Oncopeltus fasciatus	Electroph. sur papier	Adulte ♀	3 fractions protéiques dont 1 migre vers la cathode	(6)
	Electroph. sur gel d'amidon	Oeuf et larve à l'éclosion	3 fractions migrent vers la cathode, 9 à 11 vers l'anode. "Enzymologie"	(5)
		Nymphe de 5e âge et adulte	3 ou 4 fractions migrent vers la cathode, 5 à 8 vers l'anode. Contrôle par immunodiffusion sur agar	(7)
	Immuno-électroph.	Cycle complet du développ-	Le nombre d'antigènes décelés passe de 5 à 11 au cours du cycle. "Enzymologie"	(7)
Panstrongylus megistus	Electroph. sur gélose	?	Une dizaine de fractions. Pas de différence pour âge, sexe ou infection par Trypanosoma	(3) (8)
Rhodnius prolixus	Electroph. sur papier	5e âge	3 fractions principales. Une 4e migre très en avant	(9)
	Electroph. sur gélose	?	2 fractions migrent vers l'anode, 8 ou 9 vers la cathode. Pas de différence pour âge, sexe ou infection par Trypanosoma	(1) (3) (8)
	Electroph. sur acétate de cellulose	Dernier âge, adulte, "opérés"	4 fractions protéiques	(2)

Rhodnius prolixus (suite)	Electroph. sur gel d'amidon	Dernier âge, adulte, "opérés"	18 fractions protéiques au maximum. 2 sont spéciales au stade adulte, et abondantes dans l'oeuf	(2)
	Immuno-électroph.	Dernier âge, adulte, "opérés"	Confirmation de ces résultats	(2)
Triotoma infestans	Electroph. sur papier	5e âge	3 fractions principales. Une 4e (double) migre très en avant	(9)
		?	Variation de l'hémolymphe en fonction du donneur (Homme ou animal). Comparaison avec sérum	(4)
	Electroph. sur gélose	Adulte Oeuf	2 fractions migrent vers l'anode, 8 vers la cathode. Protéines de l'oeuf différentes. Pas de différence pour âge, sexe ou infection par Trypanosoma	(1) (3)
Triotoma pallidipennis et T. phyllosoma	Electroph. sur papier	5e âge	2 fractions principales, une 3e migrant très en avant	(9)
Triotoma platensis	Electroph. sur papier	5e âge	4 fractions principales. Une 5e migre très en avant	(9)
Triotoma brasiliensis, T. vitticeps et T. sordida	Electroph. sur gélose	?	10, 12 ou 14 fractions protéiques. Pas de différence pour âge, sexe ou infection par Trypanosoma cruzi	(3)

BIBLIOGRAPHIE : Références détaillées en fin de Mémoire.

(1) P. L. G. BENOIT et M. VAN SANDE - 1959 ; (2) G. C. COLES - 1964-1965 a - b - c ; (3) G. MISSELIJN et Coll. - 1959 ; (4) F. PICK - 1956 ; (5) E. H. SALKELD - 1965 ; (6) W. P. STEPHEN - 1956 ; (7) M. L. TERANDO et D. FEIR - 1965-1967 ; (8) M. VAN SANDE et D. KARCHER - 1960 ; (9) R. ZELEDON et E. I. MORUA - 1963

CONCLUSIONS :

De l'ensemble de ces résultats, nous pouvons dégager les faits suivants :

1° - Parmi les insectes étudiés, ceux appartenant à l'ordre des Lépidoptères l'ont été le plus, incontestablement du fait de leur facilité d'obtention ou d'élevage.

2° - Les techniques d'électrophorèse sur papier et gel d'amidon sont le plus couramment utilisées. Celles sur gélose, acétate de cellulose et d'immuno-électrophorèse (sur gélose ou gel d'amidon) le sont peu. Le gel d'acrylamide, support électrophorétique récent et d'un grand pouvoir de résolution (jusqu'à 22 fractions séparées alors que 5 au maximum le sont par électrophorèse su papier) semble devoir prendre la place du gel d'amidon dans un proche avenir, à moins que de nouveaux supports et de nouvelles techniques, du fait d'un meilleur pouvoir de résolution ou de leur plus grande commodité d'utilisation par le biologiste, ne les supplantent tous les deux.

3° - Les recherches effectuées peuvent être groupées sous les deux thèmes suivants :

- Génétique :

Les différences entre protéines de l'hémolymphe d'insectes appartenant à des ordres, des genres, des espèces différentes ou non, et même à l'intérieure d'une espèce, les différences entre mutants ou sexes (A.S. FOX et S.B. YOON (1957) ; W. P. STEPHEN et A.L. STEINHAUER (1957) ; I. BREZNER et W.R. ENNS (1958) ; J.P. DUFFY (1958) ; W.P. STEPHEN (1958) ; G. MISSELIJN et Coll. (1959) ; R.A. HART et W.R. ENNS (1960) ; W.P. STEPHEN (1961) ; J.R. WHITTAKER et A.S. WEST (1962) ; R. ZELEDON et E.I. MORUA (1963) ; H. LAUFER (1964) ; C. BARRY (1965) ; B.G. LOUGHTON (1965) ; B. G. LOUGHTON et A.S. WEST (1965)) peuvent s'expliquer, à la lumière des travaux de J.L. HUBBY (1963), E.M. PANTELOURIS et E.J. DUKE (1963), J.L. HUBBY et L.H. THROCKMORTON (1965), P.S. CHEN (1966) et E. J. DUKE (1966 a), par des modifications dans la configuration chromosomique.

- Physiologique :

Les protéines de l'hémolymphe des Insectes subissent, comme cela a été montré par de très nombreux auteurs, des modifications au cours du cycle biologique normal (voir tableaux précédents) ou naturellement perturbé par le milieu (J.R. WHITTAKER et A.S. WEST -1962 ; R. MARTY et J.P. ZALTA-1968), la maladie ou des parasites (K. INAGAMI - 1954 ; Ch. SERIE et Coll. - 1956 ; G. MISSELIJN et Coll. -1959 ; A. DRILHON et C. VAGO - 1960 ; M. VAN SANDE et D. KARCHER -1960 ; S. SAUERLANDER et P. EHRHARDT - 1961 ; J. S. BARLOW - 1962 b ; S. SRIDHARA et T. S. ANANTASAMY - 1963 ; S. KAWASE et Y. HAYASHI - 1965 ; A. B. GUKASJAN - 1966 ; E. JUNNIKKALA - 1966 ; M. E. MARTIGNONI et J. E. MILSTEAD - 1966 ; H. WATANABE - 1967 ; G. BENNETT et Coll. - 1968 ; G. R. SEAMAN et N. L. ROBERT - 1968).

Les changements observés au moment de la mue, ou de certains stades particuliers du développement (filage, reproduction, etc...) amenèrent les expérimentateurs à agir pour modifier ces phénomènes afin de les expliquer, et ainsi chercher à mettre en évidence le rôle des protéines de l'hémolymphe.

C'est dans le cadre de cette orientation physiologique que se situent nos recherches.

--o-O-o--

CHAPITRE I

MATERIEL D'ETUDE ET TECHNIQUES

Les protéines de l'hémolymphe de six espèces de Lépidoptères ont été étudiées par diverses techniques électrophorétiques. Nous préciserons les conditions d'élevage et les caractéristiques biologiques de chacun de ces Lépidoptères, avant de décrire les techniques électrophorétiques utilisées.

I - MATERIEL D'ETUDE - ELEVAGE ET BIOLOGIE

Six espèces de Lépidoptères : le Ver à soie (Bombyx mori L.), la Spongieuse (Lymantria dispar L.), la Teigne des ruches (Galleria mellonella), le Bombyx du chêne* (Antheraea pernyi Guer.), la Processionnaire du pin (Thaumetopoea pityocampa Schiff) et la Piéride du chou (Pieris brassicae L.), ont été élevées au laboratoire.

A - BOMBYX MORI, LYMANTRIA DISPAR ET GALLERIA MELLONELLA

Ces trois Lépidoptères sont d'élevage courant dans notre Laboratoire (J. J. BOUNHIOL - 1938).

Nous utilisons des Vers à soie des races Nistari, Europe ou hybride "Japchino", élevés en pièce climatisée à 18-20°. Les larves font 4 (parfois 5) mues, puis filent un cocon dans lequel elles se nymphosent. A l'émergence, les papillons s'accouplent et pondent. Les "Japchino" à sang clair ont notre préférence en électrophorèse sur papier.

* Précisons qu'en France, le Lépidoptère Gastropacha quercifolia L. est communément appelé Bombyx du chêne (parfois Bombyx des feuilles de chêne, ou Bombyx feuille-morte).

Les Spongieuses présentent un dimorphisme sexuel. Les mâles font quatre mues larvaires alors que les femelles en font cinq. En fin de dernier âge, les chenilles filent un "faux cocon" fait d'un peu de soie et de débris de feuilles. A l'émergence, les papillons s'accouplent puis pondent 24 heures après.

La Teigne des ruches fait un nombre de mues larvaires variable (supérieur à 5) avant de filer un cocon complet. La ponte se produit dès l'émergence, après l'accouplement, si l'on fournit un support convenable à la femelle.

Pour ces trois Lépidoptères, l'arrêt naturel du cycle biologique (diapause) se fait à l'état d'oeuf.

B - ANTHERAEA PERNYI, THAUMETOPOEA PITYOCAMPA, PIERIS BRASSICAE

1° - Antheraea pernyi

Les Bombyx du chêne sont élevés en pièce climatisée à 20°. Leur cycle biologique, en première génération, est comparable à celui du Ver à soie du mûrier, mais de plus grande durée.

En deuxième génération, une diapause nymphale se produit. Elle peut être supprimée par une photopériode de 16 à 18 heures, ce qui permet un élevage permanent (A. DELPLANQUE et R. PONSARDIN - 1964).

La grande taille des chenilles nous était apparue comme un avantage : grande quantité d'hémolymphe même chez les chenilles jeunes ; en fait, leur élevage est long, et leur cycle biologique, trop irrégulier pour l'expérimentation, nous fera abandonner cet animal.

2° - Thaumetopoea pityocampa

En novembre, nous avons prélevé des nids en Charente-Maritime (près de ROYAN) ; les animaux avaient fait la IIIe mue larvaire et étaient en repos hivernal. Les nids furent placés dans des cages de taille variant entre 20 x 20 x 20 cm, et 30 x 35 x 40 cm, et soumis à des températures différentes :

- Si la cage est mise à l'extérieur, les animaux font la IVe et dernière mue larvaire (D. M.) début décem-

bre. Ils demeurent au dernier stade plusieurs mois et s'enterrent en mai-juin. Après le filage du cocon dans la terre, la prénymphose dure à peu près dix jours. L'imaginaison aura lieu en juin-juillet ;

- Si la cage est placée dans une pièce à 8 - 10°, la résistance au froid et au jeûne qu'il entraîne, dépend des conditions expérimentales ;

. Si les animaux sont extraits de leur nid et placés au froid, ils se groupent sous la mousse et ne font pas de nouveau nid. Ils meurent en grand nombre après être restés sans se nourrir et au même stade L_4 (après la IIIe mue) pendant deux mois. Certains meurent juste après avoir fait la D. M. ;

. Si un nid entier est mis en cagette et au froid, les animaux restent à l'intérieur du nid et sont capables de filer afin de réparer les dégâts provoqués par nous sur ce nid. Au bout de deux mois, les chenilles sont toujours au même stade L_4. S'il y a une augmentation de température, les vers vont sortir du nid, puis se nourrir et muer.

- Lorsqu'on met la cage à 20°, début novembre, les chenilles étant en L_4, elles font la D. M. début décembre. Elles s'enterrent un mois plus tard, se nymphosent à la mi-janvier, l'imaginaison se produisant début avril ;

- Les animaux placés dans une pièce climatisée à 25° ont un cycle encore plus accéléré : D. M. début décembre, nymphose début janvier, émergence en mars.

Il faut noter que, dans ces conditions, les vers ne se nourrissent très abondamment que la nuit. Le jour, ils restent à l'intérieur du nid. Notons de plus que, dans de nombreux cas, et malgré la présence de mousse et de terre au fond de la cage, les animaux ne s'enterrent pas forcément pour filer : certains font leur cocon dans les branches de pin et souvent à l'intérieur du nid.

Enfin, signalons que les papillons ne se sont pas reproduits en captivité. Ce fait, ajouté d'une part à la grande variabilité des "pseudo-diapauses" larvaires et nymphales en fonction de la température, et d'autre part, les trop nombreuses précautions nécessaires (et non suffisantes) pour manipuler ces animaux, les cocons et les nids afin d'éviter les réactions

d'urtication provoquées par les poils urticants (J. H. FABRE - 1899 ; G. VALETTE et H. HUIDOBRO - 1954, 1956 ; G. DEMOLIN - 1963) nous amènera à abandonner ce matériel pour l'expérimentation.

3° - Pieris brassicae

En tenant compte des travaux de J. LAHARGUE (1952), W. A. L. DAVID (1957, 1962, 1965), W. A. L. DAVID et B. O. C. GARDINER (1952, 1960, 1965, 1966) et de ceux de J. CLARET (1966), l'élevage permanent de la Piéride du chou est réalisé dans une pièce climatisée à 18-20° et éclairée la nuit pour éviter toute interruption du cycle biologique (diapause nymphale comme chez Antheraea pernyi).

a - Les très jeunes chenilles :

Sur un jeune chou, nous observons des pontes. Une ponte comporte de 50 à 80 oeufs. A l'éclosion, qui se fait après 4 à 6 jours d'incubation à 18-20°, les jeunes chenilles sont peu vagabondes et dévorent sur place la feuille de chou. On laisse les jeunes chenilles sur ce chou, régulièrement arrosé afin qu'il ne se dessèche pas, jusqu'à ce qu'il soit bien attaqué.

On prélève ensuite le reste de la feuille de chou sur lequel sont les jeunes chenilles. De la ouate cellulosique est placée au fond d'un récipient en verre, profond, pouvant être fermé par un morceau de bas nylon et un élastique. On y place les jeunes chenilles prises en sandwich entre deux morceaux de feuilles de jeune chou (jeune chou du jardin). Une fois par jour on refait ce sandwich avec du chou frais.

Quand les chenilles deviennent plus vagabondes, bien visibles dans le récipient en verre, elles sont nourries 1 ou 2 fois par jour d'une feuille de chou, selon leur appétit.

Le nettoyage des récipients en verre doit être fait régulièrement, pour éviter la fermentation du chou. Pour cela, peu de temps après avoir nourri les chenilles, celles-ci venant sur la feuille de chou, on porte feuille + chenilles dans un récipient propre.

b - Les chenilles après la IVe mue

Une dizaine de jours après l'éclosion, les chenilles font la IVe et dernière mue larvaire. Très vagabondes et voraces, elles sont mises dans une cage grillagée (20 x 20 x 20 cm).

dont le fond est recouvert de ouate cellulosique que l'on changera tous les jours. Elles sont nourries de feuilles de choux du jardin au tout début du dernier âge, puis de feuilles vertes de choux pommés du commerce, préalablement lavées puis dilacérées afin d'en permettre une meilleure utilisation par les chenilles.

6 à 10 jours après la D. M., les chenilles cessent de s'alimenter et vont se fixer à la paroi supérieure ou dans les angles de la cage d'élevage, par un coussinet attachant les fausses pattes anales, et une ceinture de soie au niveau des premières fausses-pattes. Elles ne fabriquent donc pas de cocon.

c - Les papillons - La ponte

Une quinzaine de jours après la nymphose, les papillons émergent. Une photopériode longue permet donc d'éviter la diapause nymphale qui dure normalement, dans la nature, de novembre à mai-juin.

Les papillons ne sont pas sexuellement mûrs et s'alimentent plusieurs jours avant de pouvoir se reproduire. Des pontes peuvent être obtenues en laboratoire de la manière suivante : les papillons sont mis dans une grande cage grillagée (60x70x120 cm) surmontée d'une lampe à filament de tungstène de 500 W, cage aménagée comme suit : 3 des 4 côtés sont recouverts de papier blanc pour concentrer la lumière à l'intérieur ; le fond contient de la terre humide dans laquelle on peut enfoncer 4 ou 5 "fleurs artificielles" et 1 ou 2 pots dans lesquels sont plantés des jeunes choux.

Les "fleurs" sont réalisées avec un bouchon percé, dans lequel un tube de verre fermé à une extrémité s'ouvre dans une corolle en papier rigide colorée en jaune et bleu. Une baguette de bois sert de tige à cette fleur.

Chaque soir, les fleurs sont remplies d'une solution de miel à 5 %, les pots de chou et la terre arrosés. Les feuilles des choux, de même que les parois cartonnées de la cage sont aspergées d'eau pure à la pissette : les papillons boivent ces gouttelettes d'eau et butinent le miellat des fleurs. La lampe est allumée pour toute la nuit.

Au bout de 4 à 5 jours les premières pontes sont déposées sur les feuilles de chou.

Trois critères peuvent nous servir pour comparer, du point de vue biologique, ces Lépidoptères :

- 1er critère : le comportement au filage :

Le Ver à soie, la Teigne des ruches et le Bombyx du chêne filent, en fin de dernier âge, un cocon à l'intérieur duquel se fait la nymphose.

La Processionnaire du pin se comporte de la même façon pour ce qui est du cocon, mais file durant toute sa vie larvaire, une soie qui lui sert à fabriquer ou à réparer son nid.

La Spongieuse file peu de soie, mais fabrique tout de même un "faux-cocon" avec des éléments étrangers.

La Piéride du chou ne réalise pas de cocon. Elle file seulement un tapis de soie sur lequel elle se fixera par un coussinet anal et un fil de soie au niveau du thorax.

- 2e critère : la reproduction :

La Piéride est le seul de ces Lépidoptères à ne pas être prêt à la reproduction au moment de l'émergence. Elle doit s'alimenter et a une vie adulte relativement longue.

- 3e critère : la diapause :

L'arrêt naturel du développement, la diapause, est en fait modifiable par l'expérimentateur. Elle se fait :

. au stade embryonnaire chez le Ver à soie, la Spongieuse et la Teigne des ruches ;

. au stade nymphal chez le Bombyx du chêne et la Piéride ;

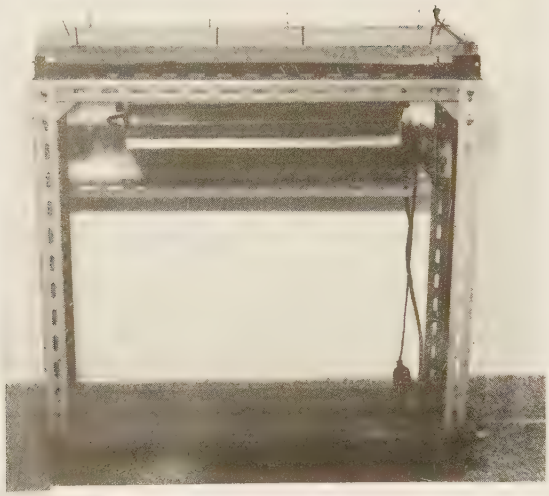
. au stade larvaire ou nymphal chez la Processionnaire du pin. Il s'agirait d'une pseudo-diapause selon A. DRILHON (1959).

Du fait de ces différences, nous comparerons les résultats électrophorétiques au cours du cycle biologique normal de chacun de ces six Lépidoptères, alors que l'étude expérimentale ne portera que sur ceux dont l'élevage est bien codifié au laboratoire, à savoir : Bombyx mori L., Lymantria dispar L. et Pieris brassicae L.

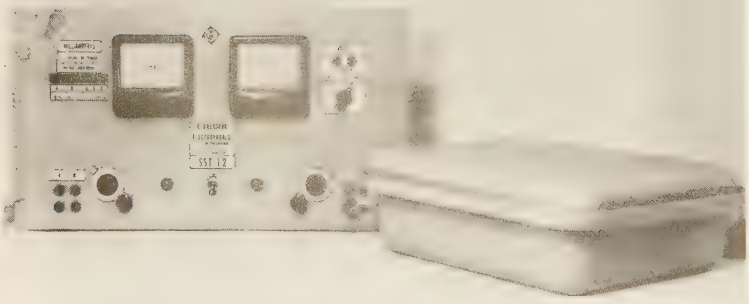
APPAREILS D'ELECTROPHORESE

1

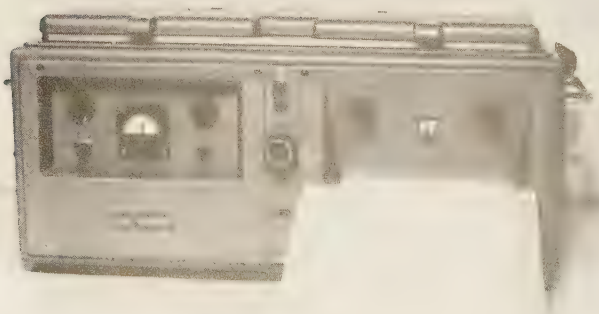
4



2



3



1 - Les éléments d'une cuve d'électrophorèse à évaporation limitée (J. GROULADE) ;

2 - Générateur de courant (J. C. MONTAGNE) et cuve d'électrophorèse à évaporation limitée (J. GROULADE) ;

3 - Intégraph ELPHOR .

4 - Agitateur et séchoir pour support d'électrophorèse.

PLANCHE N° I

II - MATERIEL D'ELECTROPHORESE - PREPARATIONS

A - APPAREILS D'ELECTROPHORESE (Planche n° I)

1° - Les cuves

Nous avons utilisé un appareil d'électrophorèse de zone à évaporation limitée, mis au point par J. GROULADE (1960), comprenant :

- une grande cuve munie d'une gouttière à sa partie supérieure (gouttière remplie d'eau et dans laquelle viennent baigner les bords du grand couvercle) et de deux bouchons (1 pour le passage des fils des électrodes, l'autre pour permettre l'ouverture ou la fermeture de la cuve) ;
- un chevalet composé de deux parties :
  - La partie inférieure avec cales, peut porter 7 bandes de papier ou, dans le cas de l'électrophorèse sur acétate de cellulose, un portoir spécial qui peut être logé à l'intérieur (J. GROULADE, communication personnelle) ;
  - La partie supérieure, sans cale, sert de couvercle et limite l'évaporation de la solution tampon sur les bandes.

Pour l'électrophorèse sur gel d'amidon, il faut munir la cuve de deux bacs courts pour mettre le tampon.

2° - L'alimentation

Elle est assurée par un redresseur pour électrophorèse : S. S. T. 12 - J. C. MONTAGNE *, muni d'un voltmètre et d'un milli-ampèremètre.

3° - Agitation et séchage

Pour les colorations, le rinçage et le séchage des bandes, nous avons réalisé un appareil comprenant :

- à sa partie supérieure, un plateau en bois de 22 x 73 cm, animé d'un mouvement de bascule grâce à un moteur asynchrone SAPMI 781 **, 2 tours par minute. Le plateau en bois peut porter deux cuvettes en matière plastique (19 x 29 cm) dans les-

* J. C. MONTAGNE, Constructeur, 35, rue des Ecoles - 92 - BAGNEUX

** Compagnie CROUZET, 18, rue J.J. Rousseau - 26 - VALENCE

quelles sont disposées les bandes à agiter ;

- à sa partie inférieure, c'est-à-dire en dessous du plateau en bois, un séchoir infrarouge. Les bandes sont disposées à environ 50 cm au-dessous de la lampe.

4° - Le photomètre

Nous utilisons l'Integraph Elphor* avec calculateur de pourcentage incorporé. Il est muni d'un filtre 570 m μ pour les bandes dont la coloration révèle protéines ou lipoprotéines, et d'un filtre 545 m μ pour les glycoprotéines.

B - PREPARATIONS

1° - Des solutions tampons (caractéristiques)

1) Véronal sodé seul : μ = 0,08 ; pH = 10,19
16,48 g de véronal sodé dans un litre d'H_2O.
2) Véronal sodé seul : μ = 0,06 ; pH = 9,8
12,36 g de véronal sodé dans un litre d'H_2O.
3) Véronal sodé + acide borique :
μ = 0,08 ; pH = 8,9
Acide borique : 4,25 g ;
Véronal sodé : 54,93 g ;
Q. s. p. : 4 litres d'H_2O.

Remarque : Les formules des trois tampons précédents n'ont, à ma connaissance, pas encore été publiées (Dr GROULADE, communication personnelle, 1961).

4) Véronal sodé + véronal acide : tampon de DURRUM (1956) : μ = 0,06 ; pH = 8,6
Dissoudre à chaud 3,68 g de véronal acide ; ajouter 20,60 g de véronal sodé. Compléter à 2 litres.
5) "Tris" : pH = 9,4 (T. ARONSON et A. GRONWALL - 1957).
Trihydroxyméthyl-aminométhane : 60,5 g ;

* Labo-Moderne, 6, rue de la Vrillière - 75 - PARIS (1er)

Acide éthylènediamine-tétra-acétique : 6 g ;

Acide borique : 4,6 g ;

Eau distillée q. s. p. : 1 litre.

6) Michaelis : pH = 8,6

Véronal sodé : 9,8 g ;

Acétate de Na : 6,4 g ;

CLH N/10 : 60 ml ;

Q. s. p. : 1 litre d'H_2O.

7) Tampon borate (O. SMITHIES - 1955)

- Pour le gel :

Acide borique : 27,2 g ;

NaOH : 176 ml de solution N ;

Q. s. p. : 2 litres d'H_2O.

- Pour les cuves :

Acide borique : 37,1 g ;

NaOH : 120 ml de solution N ;

Q. s. p. : 2 litres d'H_2O.

2° - Des antisérums

L'antisérum est obtenu par injection intramusculaire de 1 ml de la solution protéique (au 1/2 dans l'adjuvent de FREUND) dans la cuisse d'un lapin (1 piqûre par semaine pendant 4 semaines). Après 15 jours de repos, une nouvelle piqûre est faite ; 4 à 5 jours après, le lapin est saigné à blanc.

On "prépare" deux ou trois lapins avec la même solution protéique. Les sérums sont mélangés, puis répartis par 1/2 ml en tubes scellés à la paraffine, et mis au congélateur

Un tube d'antisérum sorti du congélateur n'y sera pas remis, mais sera conservé une semaine au frigo à 4°

3° - Des échantillons à électrophoréser

La préparation d'un échantillon comporte trois temps :

a - Prélèvement de l'hémolymphe

Deux techniques différentes seront utilisées selon que les animaux donnent beaucoup ou peu d'hémolymphe :

. Vers de grande taille au dernier âge :

On saigne les Vers en sectionnant une

fausse-patte ; l'hémolymphe est recueillie directement dans un petit tube à centrifugation.

. Vers avant le dernier âge, nymphes et papillons :

La quantité d'hémolymphe étant réduite, on prélève le sang avec une pipette effilée, après piqûre dans une zone variant avec le stade considéré : fausse-patte pour les vers, zone antennaire pour les nymphes et pli intersegmentaire abdominal pour les papillons. Dans le cas particulier des papillons de la Piéride du chou, un volet de cuticule du plastron thoracique est découpé. Par légère pression sur l'abdomen, de l'hémolymphe suinte au niveau de cette ouverture. Pour les papillons plus âgés, un peu de solution tampon doit être, de plus, introduite dans la plaie.

L'hémolymphe prélevée est alors déposée au fond du petit tube à centrifugation.

b - Centrifugation

Pendant 10 minutes, avant mélanisation du sang. Elle est surtout indispensable pour l'hémolymphe, très adipeuse, des nymphes.

c - Dilution

La dilution a pour but d'avoir toujours la même quantité de protéines dans un même volume de solution à analyser. Il existe un danger à la dilution : diluer l'hémolymphe c'est également diluer certaines fractions protéiques à taux relativement faible, ce qui, finalement, peut entraîner leur non visibilité après électrophorèse. Il est donc indispensable de mener de front deux électrophorèses, l'une avec l'hémolymphe entière, l'autre avec l'hémolymphe diluée dans le tampon.

III - LES TECHNIQUES ELECTROPHORETIQUES

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° - Choix du tampon (Planche n° II)

Parmi les 7 tampons précédemment décrits, l'un aura notre préférence car donnant les meilleures séparations électrophorétiques.

CHOIX D'UN TAMPON POUR ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1 - Tampon véronal sodé
2 - Tampon véronal sodé
3 - Tampon véronal + acide borique ;
4 - Tampon de Durrum ;
5 - Tampon Michaelis ;
6 - Tampon "Tris" ;
7 - Tampon Smithies.

PLANCHE N° II

Nous utilisons pour le Ver à soie le tampon "Tris", pour le Bombyx du chêne le tampon véronal $\mu = 0,06$, pour la Teigne des ruches et la Processionnaire du pin le tampon véronal + acide borique, et pour la Spongieuse et la Piéride du chou le tampon Smithies pour gel d'amidon.

2° - Séparation

Nous utilisons le papier Schleicher et Schull n° 2043 à Mgl et suivons dans le détail la technique du Docteur J. GROULADE (1961). Sur chaque bande, on trace deux traits, l'un servant de point de dépôt, et, entre eux, sera mis un numéro de référence.

Après la migration, d'une durée de 16 heures (ddp = 220 volts, I = 8 mA), les bandes sont séchées sous la source infrarouge.

3° - Colorations

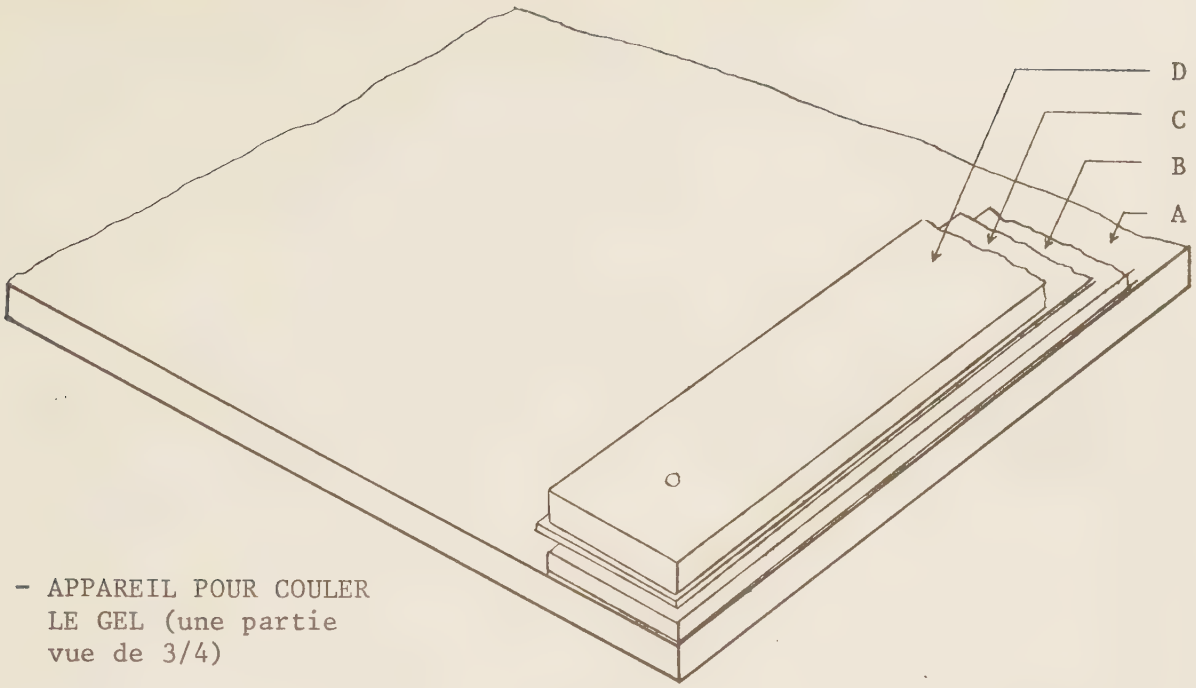
Les protéines sont révélées par l'amidoschwarz 10 B. L'excès de colorant est éliminé par plusieurs bains de méthanol acétique. Les bandes sont essorées entre deux feuilles de papier filtre, abandonnées à l'air pour séchage, puis collectionnées et gardées à l'abri de la lumière.

Glycoprotéines et lipoprotéines sont colorées selon le protocole expérimental décrit par le Dr GROULADE (1961), en employant la fuchsine diamant R. A. L. (Prolabo) et le noir Cérol B.

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON

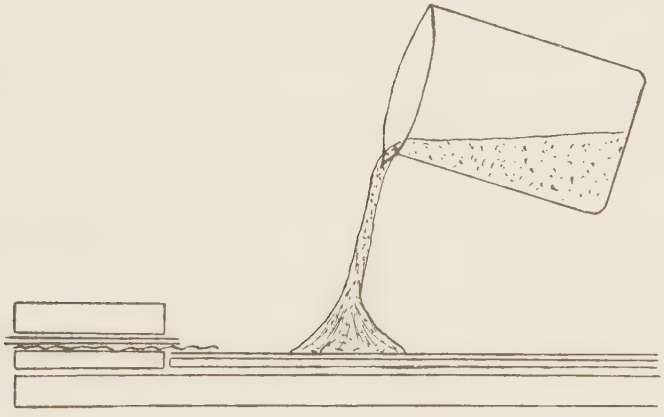
1° - Electrophorèse monodimensionnelle

La technique initiale de SMITHIES a subi de nombreuses modifications. En particulier, J. GROULADE et C. OLLIVIER (1960) ont d'abord réalisé "un appareillage permettant d'obtenir un gel en couche mince d'épaisseur homogène". Ils ont, de plus, mis au point une plastification du gel, après ou avant coloration, qui "permet d'obtenir des documents plus faciles à manipuler et à conserver". Nous utilisons cette technique et avons schématisé l'appareil

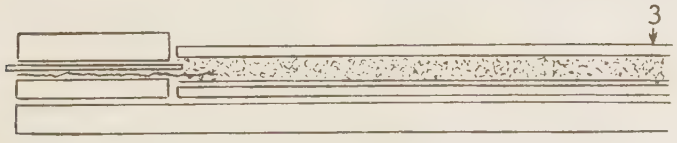


1 - APPAREIL POUR COULER LE GEL (une partie vue de 3/4)

2 - APPAREIL EN COUPE



3 - COULEE DU GEL D'AMIDON



4 - EGALISATION DE L'EPAISSEUR

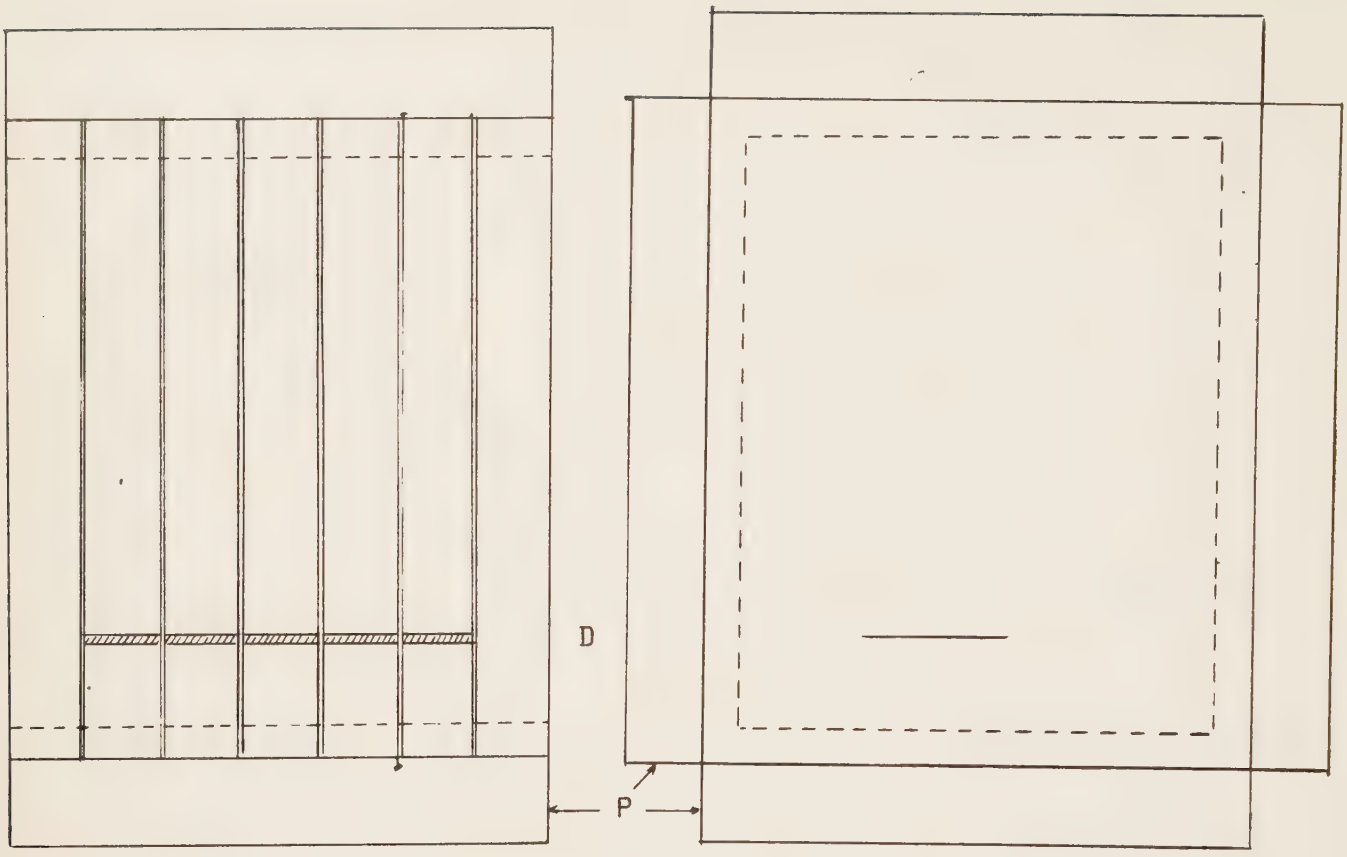
Légende : (dimensions en mm)

A, B, C, D, 1 : plaques de leucoflex :
- A : 8 × 300 × 340 ;
- B : 5 × 40 × 300 ;
- C : 1 × 47 × 300 ;
- D : 8 × 40 × 300 ;
- 1 : 1 × 220 × 258

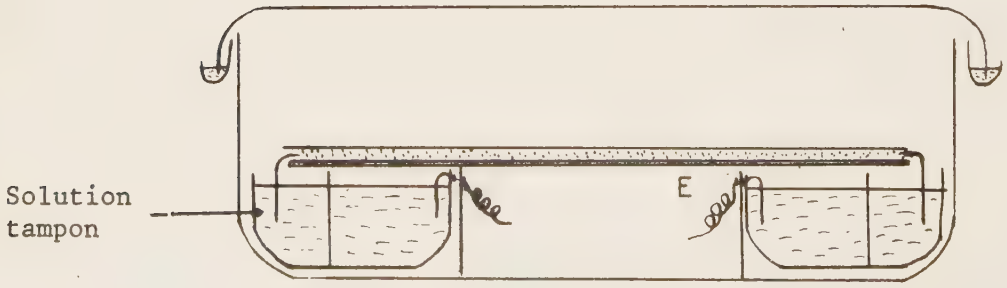
P : papier arches 302
50 × 220

2, 3 : plaques de verre
2 × 220 × 260

PLANCHE N° III



1° - ASPECT DU GEL D'AMIDON (vue de dessus)
APRES DEPOT (D) DE L'ECHANTILLON
(A : gel monodimensionnel ; B : gel bidimensionnel)



2° - COUPE LONGITUDINALE DE LA CUVE (milieu de l'appareil)
ET GEL D'AMIDON EN PLACE
(P : papier arches ; E : électrode)

PLANCHE N° IV

de préparation des gels ainsi que les diverses phases opératoires (coulée du gel, égalisation de l'épaisseur, découpage des pistes de migration et dépôt de l'échantillon, mise en place dans la cuve d'électrophorèse). (Planches n° III et IV).

Les conditions expérimentales seront : d. d. p. = 230 V ; I = 120 mA, et le temps de passage du courant sera de 14 h pour Bombyx mori, Antheraea pernyi et Thaumetopea pityocampa, 8 h pour Galleria mellonella, Lymantria dispar et Pieris brassicae.

L'électrophorèse étant terminée, il faut ensuite colorer, photographier, puis plastifier les bandes :

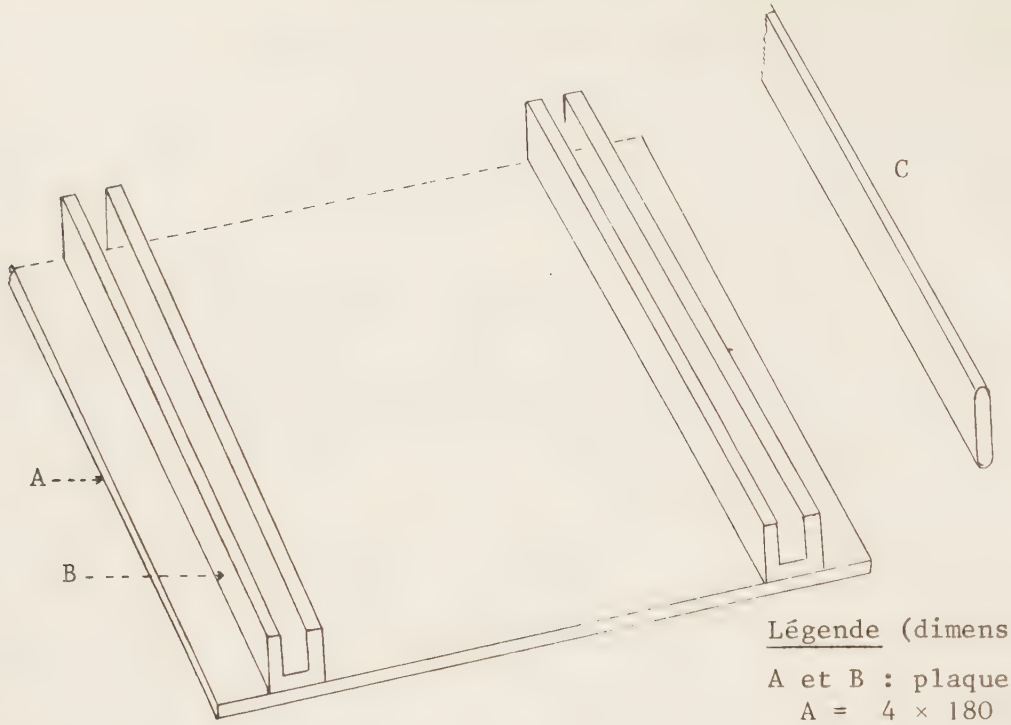
- coloration : 4 h dans une solution colorante (500 mg d'amidoschwarz dans 1 litre de solution d'acide acétique à 5/100), suivies de 48 à 72 h d'une décoloration par de nombreux bains en eau acétique à 5/100.

- photographie : à la fin de la décoloration, les bandes placées sur une plaque de verre sont photographiées en utilisant deux filtres jaune et rouge, superposés afin de rendre plus nettes les fractions protéiques de faible concentration.

- plastification : les bandes sont immergées (5 à 12 h dans le bain plastifiant (acide acétique : 5 ml + glycérine : 5 ml ; eau distillée q. s. p. : 100 ml) puis séchées durant 4 à 5 h sous infrarouge. Elles sont ensuite stockées bien à plat.

2° - Electrophorèse bi-dimensionnelle

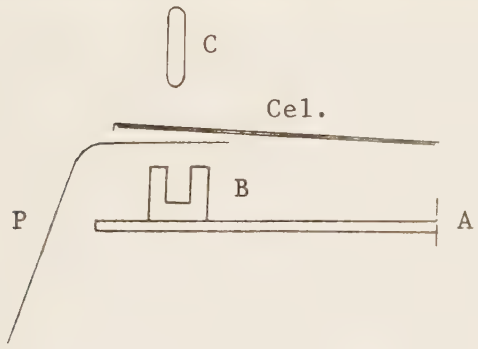
Dans le premier temps opératoire (préparation de l'appareil), pour obtenir un gel mince et homogène, il faut mettre en place deux bandes supplémentaires de papier Arches 302 disposées dans le sens de la longueur, bien tendues et chevauchant la plaque de verre sur 1,5 cm. Lors de la coulée et de l'égalisation de l'épaisseur, le papier Arches se trouvera ainsi incorporé dans 1,5 cm du gel, et ce sur les quatre côtés de la plaque. Pour le dépôt, une bandelette de gel de 2 x 40 mm est malaxée avec la

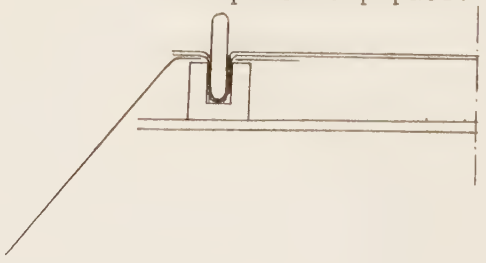


1 - PORTOIR POUR BANDES (partie vue de 3/4).

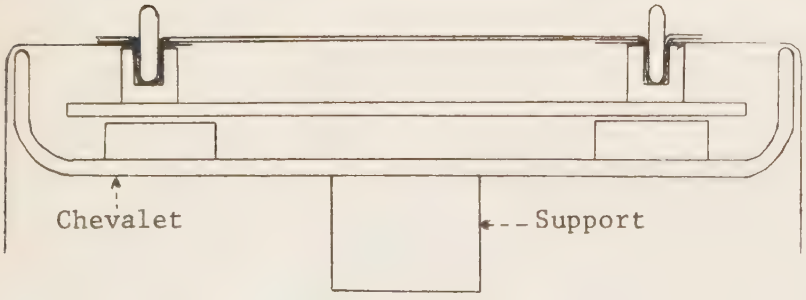
Légende (dimensions en mm) :

A et B : plaques de leucoflex :
A = 4 × 180 × 280 ;
B = 15 × 15 × 280 ;
C : réglette de leucoflex :
C = 20 × 4 × 280 ;
Cel. : bande de Cellogel
Cel. = 170 × 25 ;
P : pont de papier.

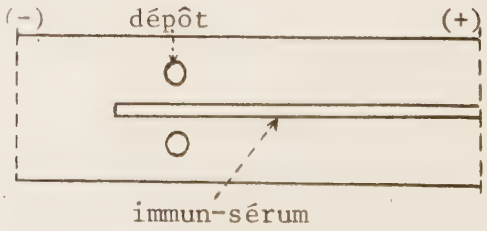




2 - MISE EN PLACE DES BANDES SUR LE PORTOIR.



3 - MISE EN PLACE DU PORTOIR DANS LA PARTIE INFERIEURE DU CHEVALET.



4 - IMMUNO-ELECTROPHORESE

solution à analyser, puis remise dans la gouttière d'où elle avait été enlevée (Planche n° IV).

Les conditions expérimentales sont les suivantes :

- 1re migration : d. d. p. = 230 V ; I = 12 mA ; t = 14 ou 8 h ;
- 2e migration : d. d. p. = 175 V ; I = 20 mA ; t = 8 ou 4 h.

En fin de migration, cette plaque de gel sera colorée, décolorée, photographiée, mais ne sera pas plastifiée.

C - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE ET IMMUNO-ELECTROPHORESE

Nous utilisons les bandes "Cellogel" *, 2,5 x 17 cm, et le tampon Smithies pour gel d'amidon. Le protocole expérimental est le suivant :

1° - Préparation des bandes

Les bandes sont rincées dans la solution tampon, sur l'agitateur, pendant 15 minutes, puis essorées entre deux feuilles de papier filtre.

2° - Mise en place des bandes

Les bandes sont placées sur le portoir à deux rainures (Schéma 1 - Planche n° V) sur lequel on a mis au préalable des morceaux de papier filtre de 2,5 x 12 cm imprégnés de tampon (Schéma 2 - Planche n° V). La tension des bandes et le contact avec les ponts de papier se font lorsque l'on enfonce les deux réglettes de leucoflex dans les rainures.

Le portoir est alors mis dans le chevalet (partie inférieure munie de cales) (Schéma 3 - Planche n° V).

3° - Dépôt de l'échantillon

Il diffère selon le type d'électrophorèse à réaliser :

* "Cellogel" fabriqué par Chemetron (MILAN) représenté en France par la Société SEBIA - 3, boulevard d'Exelmans - 75 - PARIS (16e)

a - Electrophorèse simple

Le dépôt de l'échantillon, de 1 à 5 µl, se fait en ligne, sur les 2,5 cm de largeur de la bande, à la micropipette et en s'aidant d'une règle.

b - Immuno-électrophorèse

Le dépôt se fait en gouttes de 1 à 3 µl, à la micropipette. Deux gouttes sont déposées symétriquement par rapport à l'axe de la bande (à 2 ou 3 mm de l'axe), grâce à un guide fabriqué à cet effet.

4° - Séparation électrophorétique

Après le dépôt de l'échantillon, on met le portoir dans la cuve, de façon que les ponts de papier trempent dans les bacs à électrolyte. Le chevalet (sans cale) est mis en place sur l'ensemble, de façon à éviter l'évaporation. La cuve est fermée et mise sous tension : 250 volts, 6 mA.

Au bout de 6 heures, les bandes sont sorties de la cuve et, dans le cas de l'électrophorèse simple, vont être colorées.

5° - Immuno-électrophorèse

Dans le cas de l'immuno-électrophorèse, les bandes sont enlevées du portoir à rainure, essorées entre 2 feuilles de papier filtre et disposées sur une plaque de verre (22 x 26 cm) en éliminant les bulles d'air.

a - Application de l'antisérum

Elle est réalisée à la lame de verre, et non en imprégnant d'antisérum les bandelettes de papier filtre selon W. MULLER-BEISSENHIRTZ et H. KELLER (1966).

A la micropipette, 20 µl d'antisérum sont déposés sur le bord inférieur d'une lame d'histologie (2,5 x 7,5 cm) tenue entre le pouce et l'index, de telle sorte que le dépôt d'antisérum soit égal sur les 7,5 cm de longueur de la lame. Celle-ci, tenue horizontalement, est amenée au contact de l'axe de la bande de "Cellogel" (à égale distance des 2 taches de dépôt), en l'inclinant progressivement sur le champ, jusqu'à ce que l'antisérum

s'étale, en ligne, sur la bande. On laisse quelques secondes de contact afin que l'antisérum imprègne bien la bande.

Il faut procéder relativement vite pour éviter que les bandes ne sèchent.

b - Immunodiffusion

La plaque de verre, avec les bandes, est alors portée dans la cuve recouverte du chevalet (sans cale). La cuve fermée servira de chambre humide, pendant les 24 heures de la diffusion.

c - Elimination des protéines non précipitées

La diffusion terminée, on immerge les bandes dans une solution de ClNa à 9/1000 pendant 36 heures (avec ou sans agitation). Les bandes sont alors colorées.

6° - Coloration des bandes et conservation

Les bandes de "Cellogel" humides, après électrophorèse simple ou immuno-électrophorèse, sont placées pendant 5 minutes dans un bac à coloration animé d'un mouvement de bascule, bac contenant 60 ml de colorant pour protéines*.

La décoloration est réalisée par de nombreux bains de solution décolorante**.

Après décoloration, les bandes sont placées, sans bulle, sur une plaque de verre et sous infrarouge (à 50°), jusqu'à ce qu'elles soient absolument transparentes. A ce moment, elles se décollent de la lame de verre et doivent être conservées à plat.

IV - FICHES D'EXPERIENCES

Tous les renseignements utiles sur les conditions expérimentales et sur la nature de l'échantillon étudié, sont consignés sur des fiches d'expériences.

--o-O-o--

* Colorant pour protéines

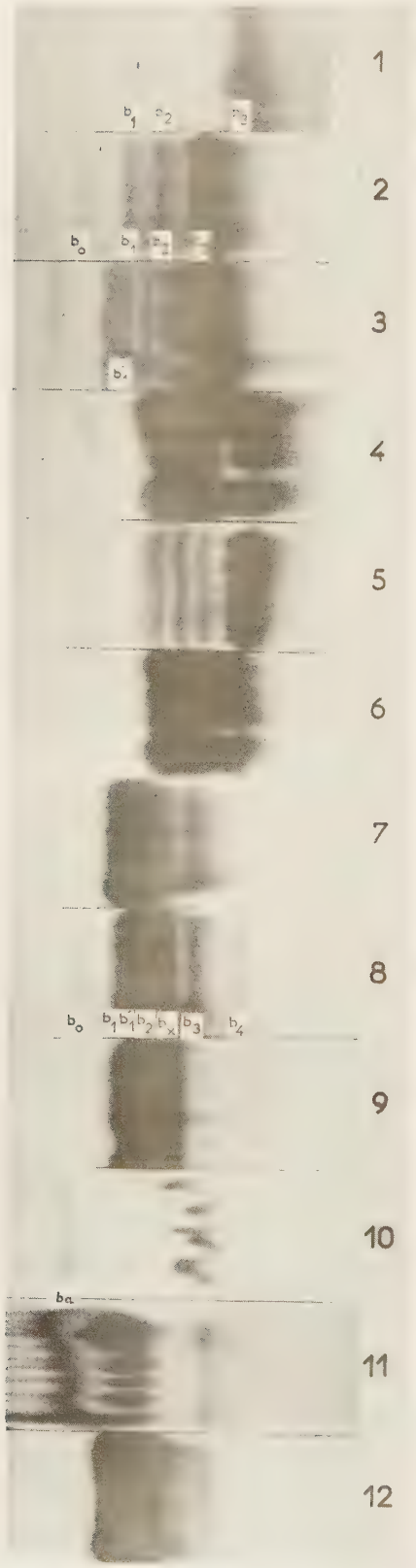
5 gr	d'Amidoschwarz
400 ml	d'Alcool méthylique
500 ml	d'Eau distillée
100 ml	d'Acide acétique

** Décolorant

350 ml	d'Alcool méthylique
500 ml	d'Eau distillée
70 ml	d'Acide acétique
100 ml	de Diacétone alcool

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *BOMBYX MORI* NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



1 : ver au 4e âge ;
2 : ver 3 jours après la D. M. ;
3 : ver 5 jours après la D. M. ;
4 : ver 6 jours après la D. M. ;
5 : ver 7 jours après la D. M. ;
6 : ver translucide ;
7 : ver au filage ;
8 : prénymphe ;
9 : nymphe de 1 jour ;
10 : nymphe de 9 jours ;
11 : papillon ;
12 : oeufs

PLANCHE N° VI

C H A P I T R E I I

ETUDE DE L'HEMOLYMPHE

AU COURS DU CYCLE BIOLOGIQUE NORMAL

Dans ce chapitre, nous décrirons les résultats obtenus en séparant les protéines de l'hémolymphe par les diverses techniques d'électrophorèse, au cours du cycle biologique normal.

Nous donnerons le maximum de détails pour le Ver à soie, la Spongieuse et la Piéride du chou. Les électrophorégrammes obtenus devront nous servir par la suite d'"électrophorégrammes témoins" lors de l'étude expérimentale entreprise sur ces trois Lépidoptères.

L'analyse de l'hémolymphe de la Teigne des ruches, de la Processionnaire du pin et du Bombyx du chêne, nous permettra d'avoir une vue plus large sur les protéines des Lépidoptères, et d'en faire une étude comparée.

I - BOMBYX MORI

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

L'utilisation du tampon "Tris" (ddp = 200 V, I = 9 mA, t = 16 h) a permis d'obtenir les résultats suivants :

1° - Les protéines : (Planches n° VI et VII)

- Avec le sang des chenilles du 4e âge, on constate l'existence de quatre fractions protéiques : b_0, b_1, b_2 et b_3.

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *BOMBYX MORI*

(Electrophorèse sur papier)

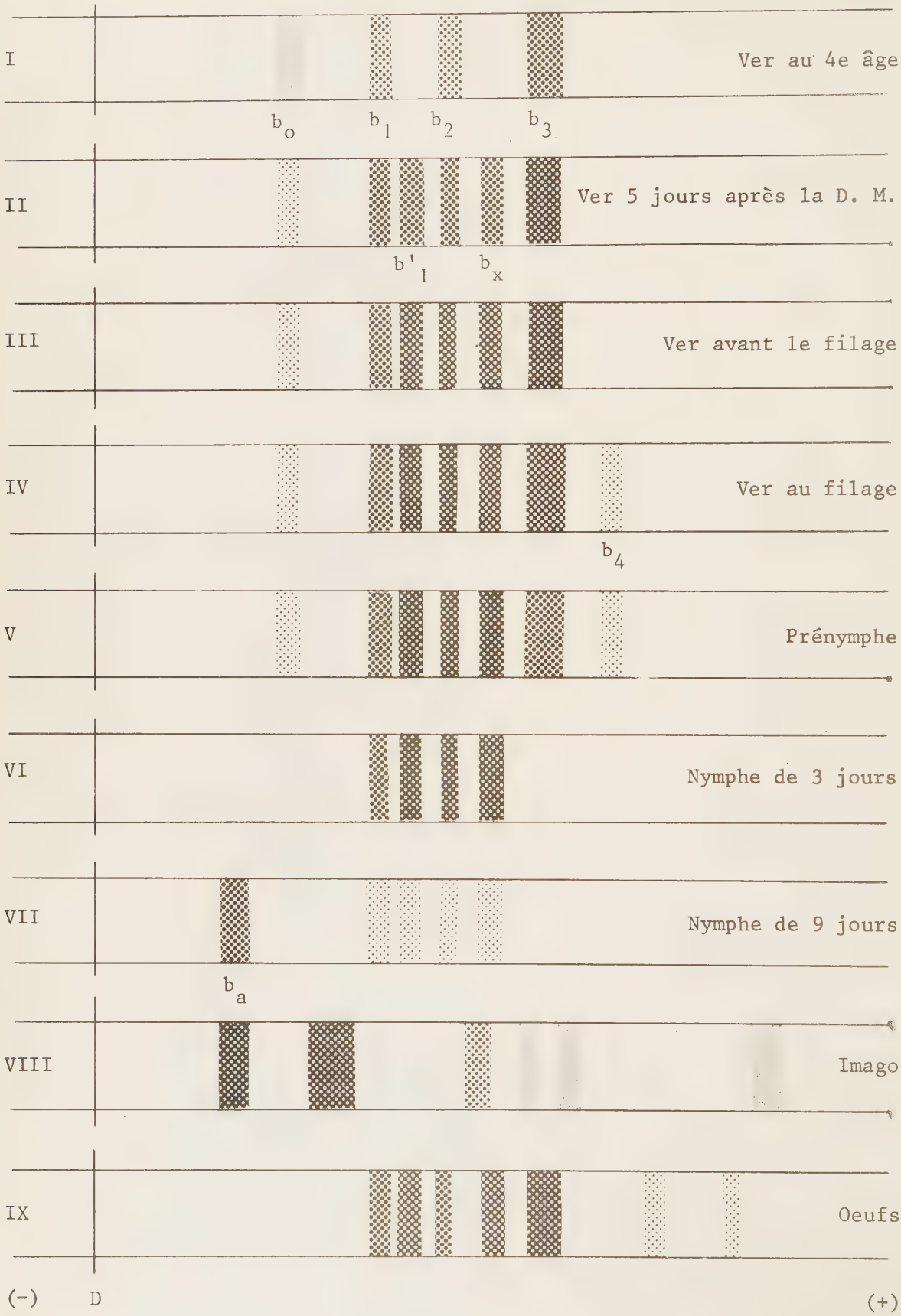


PLANCHE N) VII

(Elect. I de la planche n° VII) au lieu des 3 (b_1, b_2 et b_3) décelées par K. AIZAWA et Coll. (1960).

- Au début du dernier âge, une nouvelle fraction, que nous nommons b_x, devient visible entre b_2 et b_3. Un dédoublement de la fraction b_1 en b_1-b_1' se produit alors au milieu de ce même stade (Elect. II).

- Quand l'animal devient translucide, et quel que soit son sexe, les 6 constituants protéiques sont décelables et la fraction b_3 atteint sa concentration maximale (Elect. III).

- Au début du filage apparaît une fraction nouvelle b_4 (Elect.IV). L'ensemble b_o, b_3 et b_4 diminue beaucoup chez la prénymphe (Elect.V), pour finalement disparaître au cours de la nymphose (Elect.VI).

- De la nymphe au papillon, un grand bouleversement s'effectue. Pendant la plus grande partie de la vie nymphale, les 4 fractions b_1, b_1', b_2 et b_x sont décelables (Elect.VI). Un jour avant la mue imaginale, apparaît une fraction lente à migrer, différente de b_o, nommée b_a par K. AIZAWA et Coll. (1960) (Elect. VII). Cette fraction particulière est accompagnée le premier jour de la vie imaginale, de cinq constituants difficilement homologables à ceux de la nymphe (Elect.VIII).

- Chez les papillons, précisons que pendant toute la survie, on trouve les mêmes fractions protéiques avec la prédominance de la fraction b_a. La protéinémie diminue jusqu'à la mort.

- Les oeufs renferment les protéines solubles que l'on trouve chez la larve, à savoir : b_1, b_1', b_2, b_x et b_3. Mais on n'observe pas la fraction lente à migrer b_o, alors que l'on distingue 2 fractions migrant très en avant et non encore décelées chez chenille, nymphe ou papillon (Elect. IX).

2° - <u>Glyco et lipoprotéines</u> : (Planche n° XXXVII,p.67-68)

Les fractions protéiques sont toutes cénapsées avec des glucides et les variations de ces glycoprotéines sont semblables à celles décrites précédemment pour les protéines.

Il n'en est pas de même pour les lipides.

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *BOMBYX MORI* NORMAL

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

1 : ver au 4e âge ;
2 : ver 5 jours après la D. M. ;
3 : ver 9 jours après la D. M. (femelle) ;
4 : ver translucide ;
5 : ver au début du filage (cocon transparent) ;
6 : prénymphe mâle ;
7 : nymphe très jeune ;
8 : nymphe femelle de 3 jours ;
9 : nymphe mâle de 3 jours ;
10 : nymphe mâle de 5 jours ;
11 : nymphe mâle de 9 jours ;
12 : papillon ;
13 : oeufs.

PLANCHE N° VIII

Quel que soit le stade considéré, seul l'ensemble $b_1 = b_1'$ est fortement lipoprotéique et correspond à la fraction pigmentaire (chromoprotéine jaune = dihydroptéridine, selon M. TSUJITA et S. SAKURAI - 1963).

L'électrophorèse sur papier semble être la technique la plus commode pour colorer les glucides et surtout les lipides associés aux protéines. Par électrophorèse sur gélose, S. SRIDHARA et T. S. ANANTHASAMY (1963) n'arrivent pas à mettre en évidence les lipoprotéines, et difficilement les glycoprotéines.

B - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE

L'électrophorèse sur acétate de cellulose, réalisée avec le tampon Smithies (ddp = 250 V, I = 6 mA, t = 6 h), nous permet de mettre en évidence la même évolution que celle décrite précédemment par électrophorèse sur papier. La similitude des résultats nous a amené, d'une part, à nommer les fractions observées avec les abréviations précédentes ($b_0 \ldots b_4$), et d'autre part, à utiliser indifféremment l'une ou l'autre de ces deux techniques.

Précisons qu'avec cette technique, nous avons étudié l'hémolymphe depuis la IIe mue larvaire jusqu'à l'émergence et que, pour les stades jeunes (en particulier après la IIe mue), les quatre fractions b_0, b_1, b_2 et b_3 sont déjà décelables.

C - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON A UNE DIMENSION
(Planches n° VIII et IX)

Cette technique nous permet d'obtenir un haut fractionnement des protéines de l'hémolymphe de Bombyx mori au cours de son cycle biologique.

Les conditions expérimentales sont : ddp : 230 V ; I : 12 mA ; t : 14 h.

- On peut suivre les variations de concentration d'une fraction protéique migrant vers la cathode : importante chez la larve, elle diminue chez la nymphe pour devenir dominante chez le papillon. Une 2e fraction, fortement concentrée mais migrant

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *BOMBYX MORI*

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

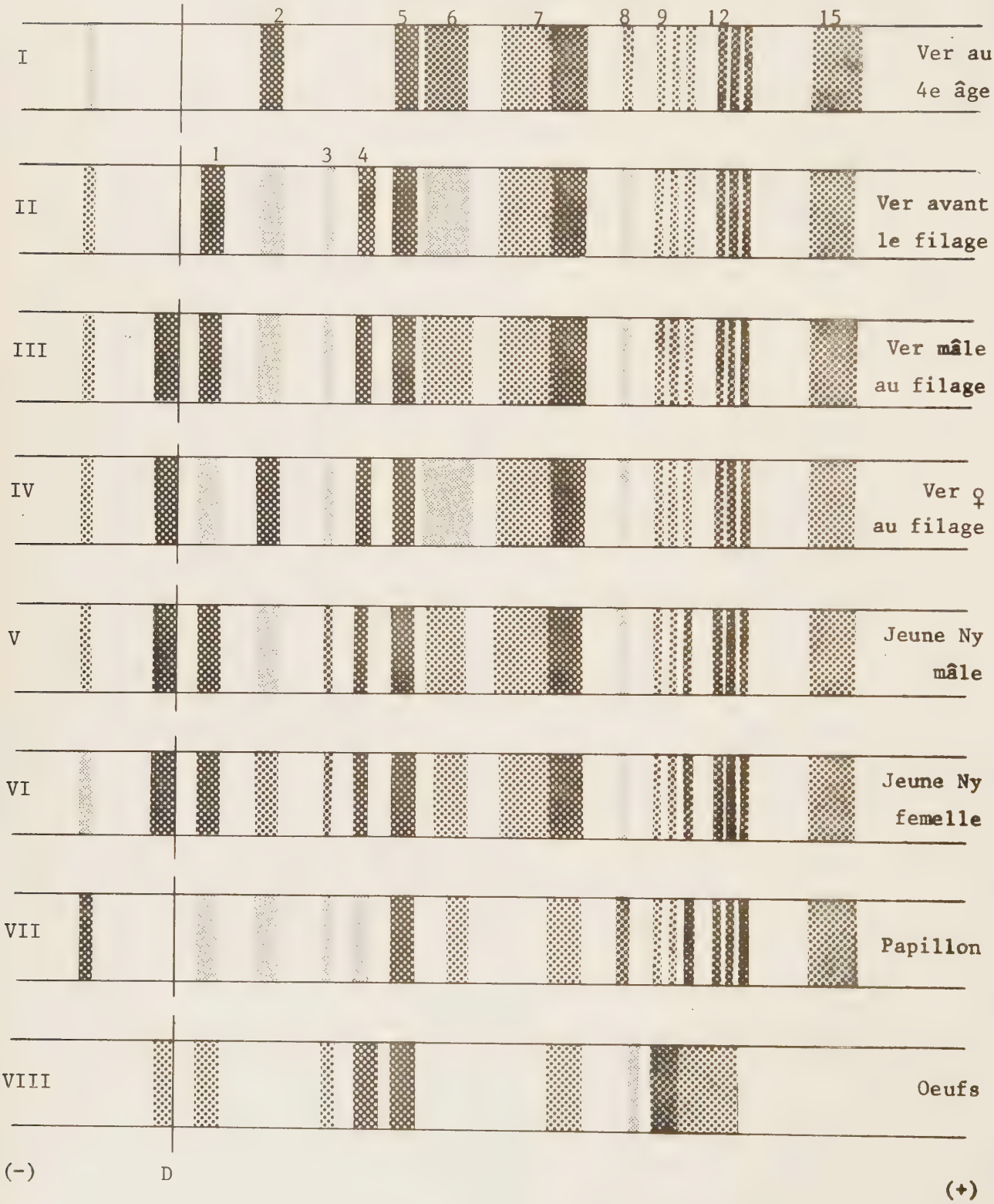


PLANCHE N° IX

très peu, se distingue au début du filage, persiste pendant toute la vie nymphale, pour disparaître chez le papillon.

- Vers l'anode migrent 15 fractions au maximum, que nous numérotons de 1 à 15, la n° 15 étant la plus distale.

. A la fin du 4e âge et au début du 5e, la fraction n° 5 domine et douze fractions seulement sont visibles (Elect.I - Planche n° IX) ;

. Avant la montée, les fractions n° 1, 3 et 4 apparaissent, l'ensemble 4 + 5 étant déjà très concentré (Elect. II) ;

. Au début du filage, la fraction 1 chez le mâle ou 2 chez la femelle acquiert une concentration d'importance égale à l'ensemble 4 + 5 (Elect. III : ♂ ; IV : ♀) ;

. Chez les jeunes nymphes, on peut distinguer les mêmes fractions, avec toujours la différence sexuelle constatée au début du filage : la fraction n° 2 est très importante chez la femelle, alors qu'elle est très faiblement concentrée, presque invisible, chez le mâle (Elect. V : ♂ ; VI : ♀). Vers la fin de la vie nymphale, plusieurs fractions (n° 1, 4+5, 7, 11 et 15) ont une importante concentration. ;

. Chez les papillons, il existe plusieurs fractions protéiques nettement visibles (Elect. VII) ;

. Les oeufs renferment des protéines solubles semblables à celles trouvées dans l'hémolymphe de la chenille : n° 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9. On trouve en avant un ensemble non dissocié, difficile à interpréter (Elect. VIII).

Remarque :

L'électrophorèse en gel d'amidon à 2 dimensions permet de confirmer l'existence des 15 fractions migrant vers l'anode. La fraction n° 5, hétérogène, se dédouble et de plus, la migration vers la cathode d'une 3e fraction de faible concentration n'est plus douteuse. (Planche n° X).

Conclusions

Les électrophorégrammes obtenus par électrophorèse sur

ELECTROPHORESE BIDIMENSIONNELLE EN GEL D'AMIDON

(Photo et schéma interprétatif)

BOMBYX MORI : CHENILLE AU FILAGE

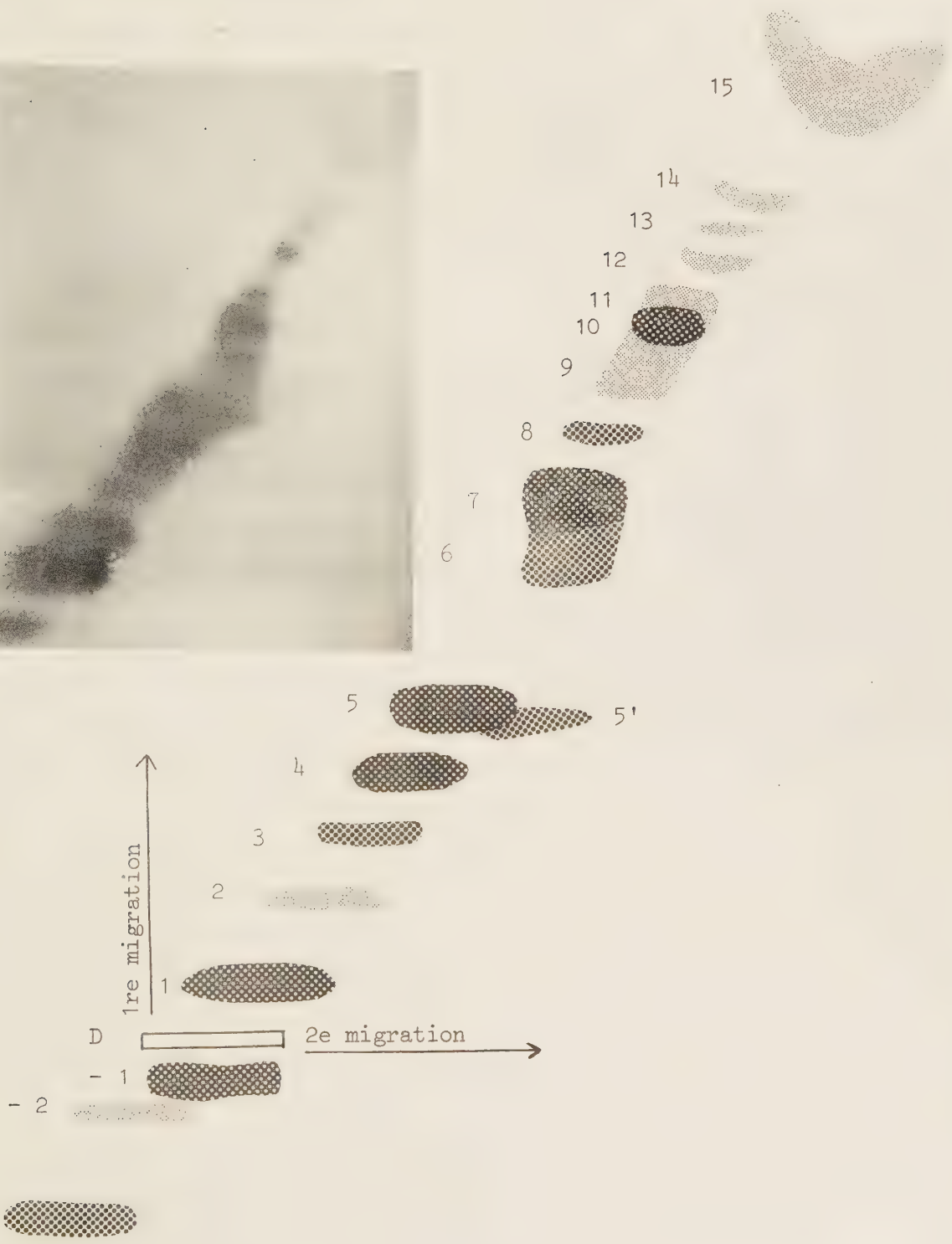
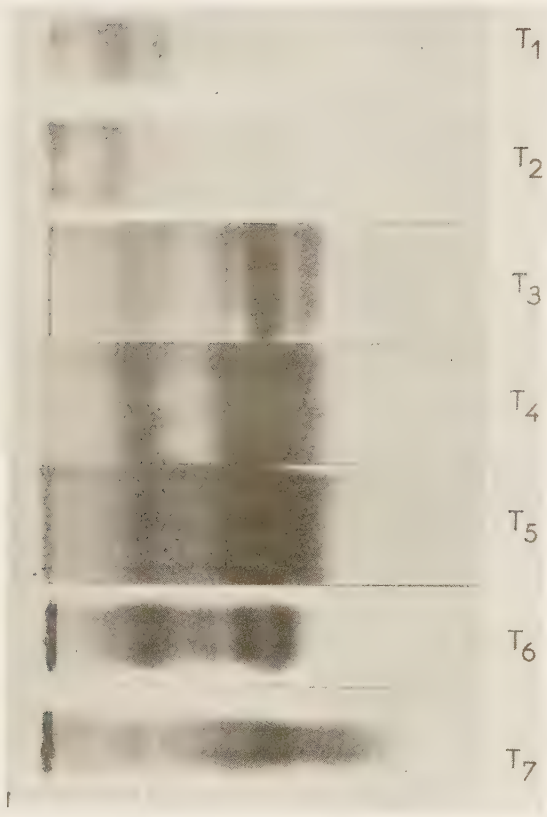


PLANCHE N° X

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *GALLERIA MELLONELLA* NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : chenille très jeune ;
T_2 : chenille à l'avant-dernier âge ;
T_3 : chenille au début du dernier âge ;
T_4 : chenille avant le filage ;
T_5 : stade cocon ;
T_6 : nymphe mâle ;
T_7 : nymphe femelle.

PLANCHE N° XI

papier sont caractéristiques de chaque stade physiologique. L'utilisation d'un tampon particulier permet d'obtenir un fractionnement plus important que celui signalé par nos prédécesseurs français (Mme DRILHON, 1954, ne décelait que deux fractions protéiques) ou japonais (qui mettent en évidence trois fractions protéiques auxquelles s'ajoute une 4e chez la femelle seulement).

De même d'ailleurs que S. SRIDHARA et T. S. ANANTHASAMY (1963) utilisant l'électrophorèse sur gélose, nous n'avons pas pu déceler la protéine M décrite par les auteurs japonais, protéine propre au sexe femelle.

Bien qu'aucune différence sexuelle ne soit visible, il est certain qu'une fraction semble s'individualiser au moment du filage, et ceci quel que soit le sexe.

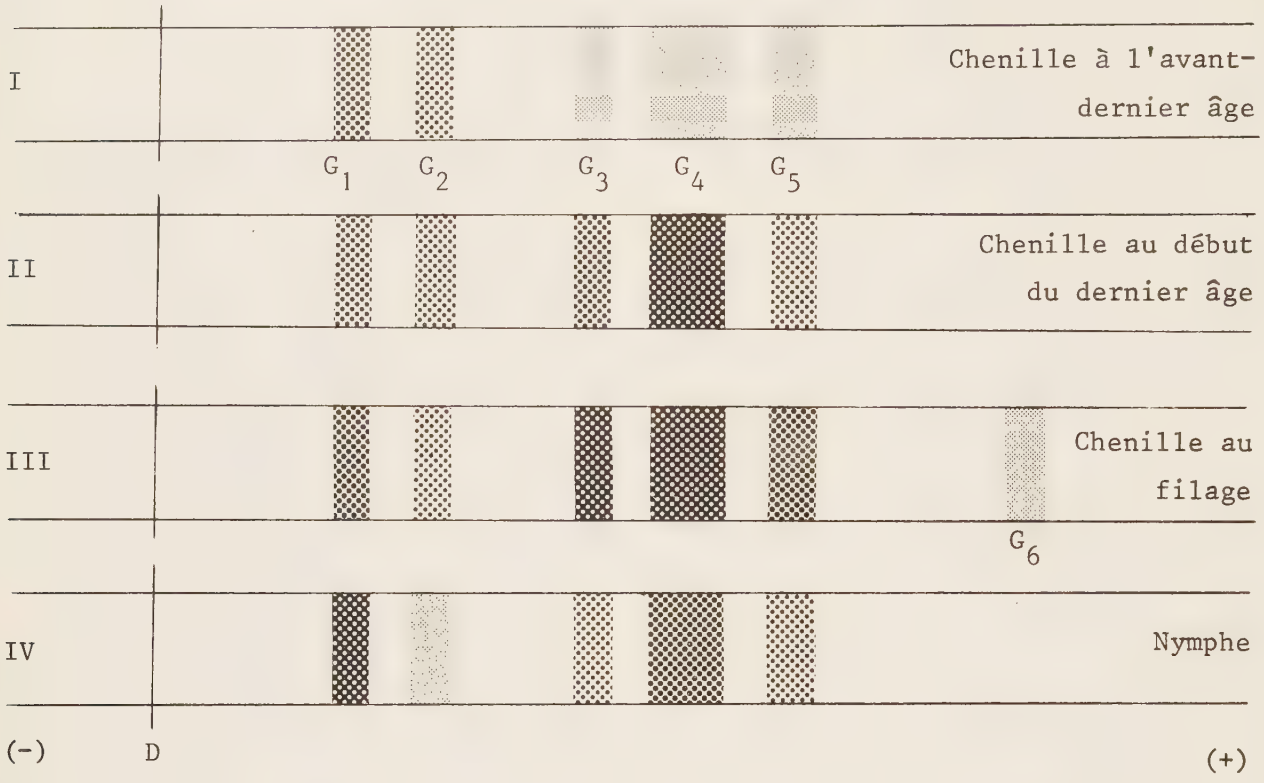
Par électrophorèse monodimensionnelle sur gel d'amidon, un nombre très grand de fractions protéiques est décelable (17 fractions au maximum, alors que J. M. DENUCE (1958 a, b, - 1959) et A. DRILHON (1959) n'en mettent en évidence qu'une dizaine). Seule l'étude des valeurs relatives des fractions permet de bien distinguer les différences entre stades. Nous ne trouvons pas de fraction spéciale au filage ou à un sexe. Cependant, une différence sexuelle existe, mais elle est d'ordre quantitatif : la fraction n° 2 est plus importante chez la femelle que chez le mâle.

II - GALLERIA MELLONELLA

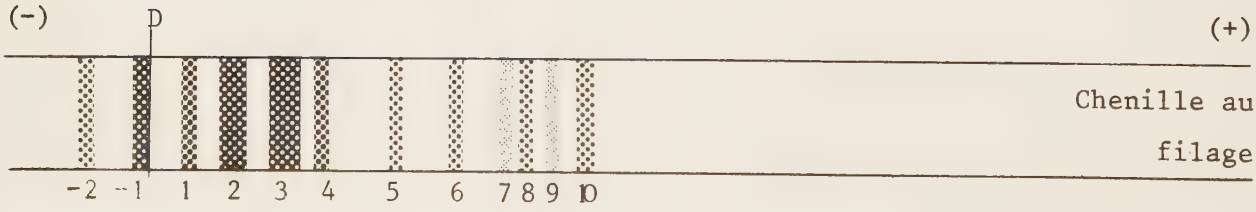
A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER : (Planches n° XI et XII)

En utilisant le tampon véronal + acide borique (d.d.p. = 200 V ; I = 9 mA ; t = 16 h), nous séparons au maximum 6 fractions protéiques que nous numérotons de G_1 à G_6. G est pris ici dans le sens de l'abréviation de Galleria et non de globuline.

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *GALLERIA MELLONELLA*



(Electrophorèse sur papier)



(Electrophorèse sur gel d'amidon)

PLANCHE N° XII

1° - Les protéines

Au stade précédant l'avant-dernier âge, 5 fractions sont déjà visibles. Celles migrant lentement, G_1 et G_2, sont les plus concentrées :

- Il en est de même à l'avant-dernier âge (Elect. I - Planche n° XII) ;

- Après la D. M., les fractions G_3, G_4 et G_5 deviennent plus concentrées et G_4 est la plus importante (Elect. II) ;

- Au moment du filage, une fraction G_6 apparaît. Elle n'est visible qu'en employant de l'hémolymphe entière : la dilution la fait disparaître (Elect. III) ;

- Chez la nymphe, G_6 disparaît. G_2 devient plus importante, alors que G_4 et G_5 diminuent (Elect. IV).

2° - Glyco et lipoprotéines (Planche n° XXXVII, p.67-68)

- Si l'on considère les animaux avant le filage, on constate que les 5 fractions sont glycoprotéiques, avec prédominance de G_4 et G_5, alors que seules G_1 et G_2 sont lipoprotéiques.

- Au moment du filage, la fraction G_6 qui apparaît n'est que glycoprotéique.

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON

Du fait que ces animaux de petite taille donnent peu d'hémolymphe, il est difficile d'en faire l'étude par électrophorèse sur gel d'amidon, si l'on veut faire une analyse individuelle précise.

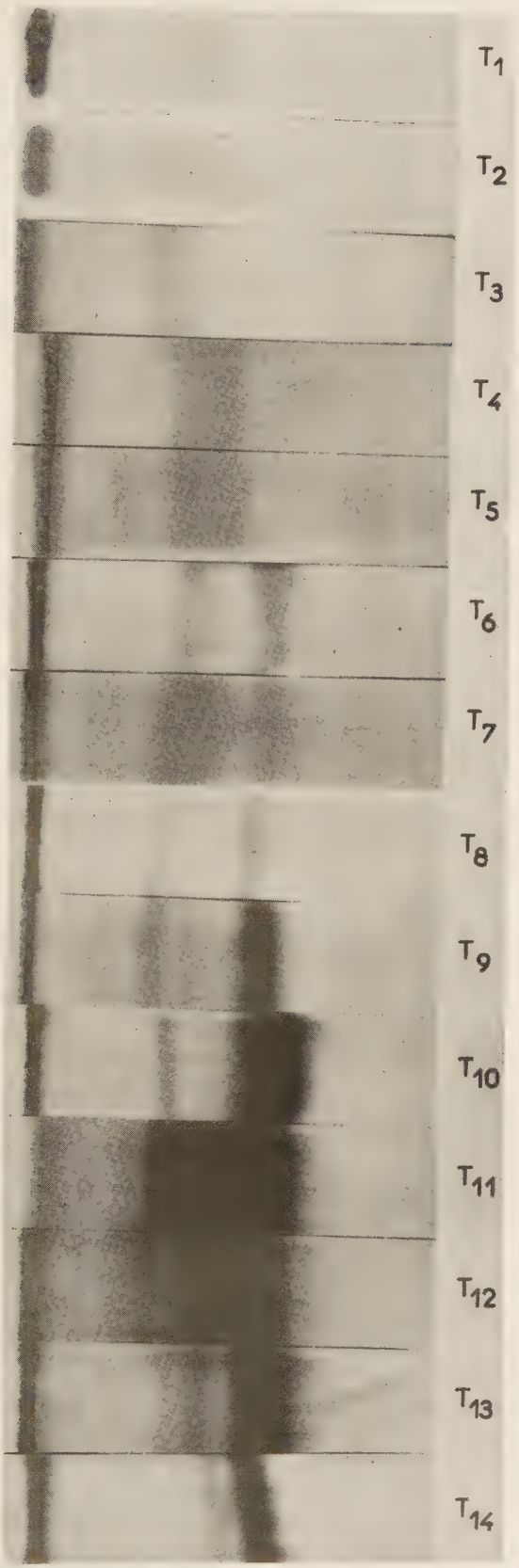
Au stade du filage, 8 fractions anodiques sont séparables, alors que 2 fractions migrent vers la cathode (Elect. V - Planche n° XII).

Conclusions

L'électrophorèse sur papier nous permet de mettre en

CYCLE ELECTROPHORETIQUE D'*ANTHERAEA PERNYI* NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : chenille 4 jours après la Ie mue ;

T_2 : chenille 2 jours après la IIe mue ;

T_3 : chenille 5 jours après la IIe mue ;

T_4 : chenille en mue IIIe ;

T_5 : chenille 1 jour après la IIIe mue ;

T_6 : chenille 4 jours après la IIIe mue ;

T_7 : chenille 1 jour après la IVe mue ;

T_8 : chenille 3 jours après la IIIe bis ;

T_9 : chenille 6 jours après la IIIe bis ;

T_{10} : chenille 12 jours après la Ve mue ;

T_{11} : prénymphe femelle ;

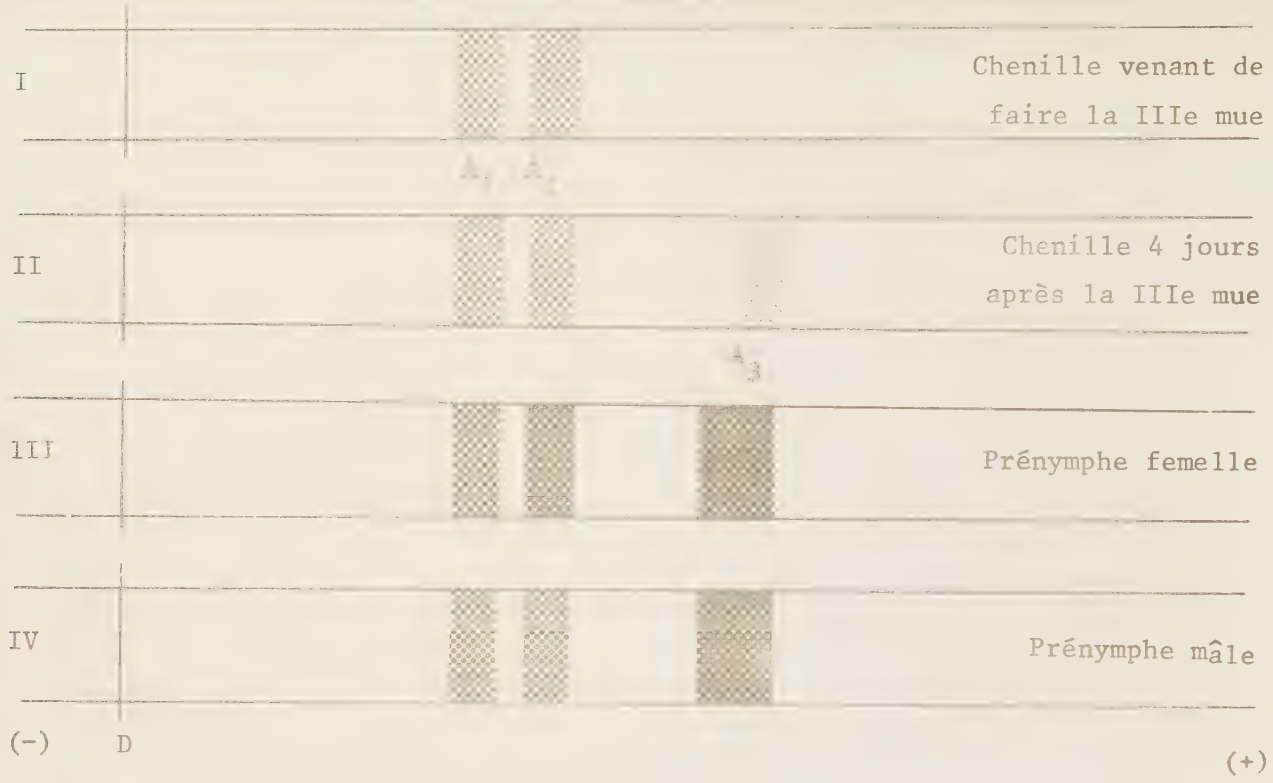
T_{12} : prénymphe mâle ;

T_{13} : nymphe mâle du jour ;

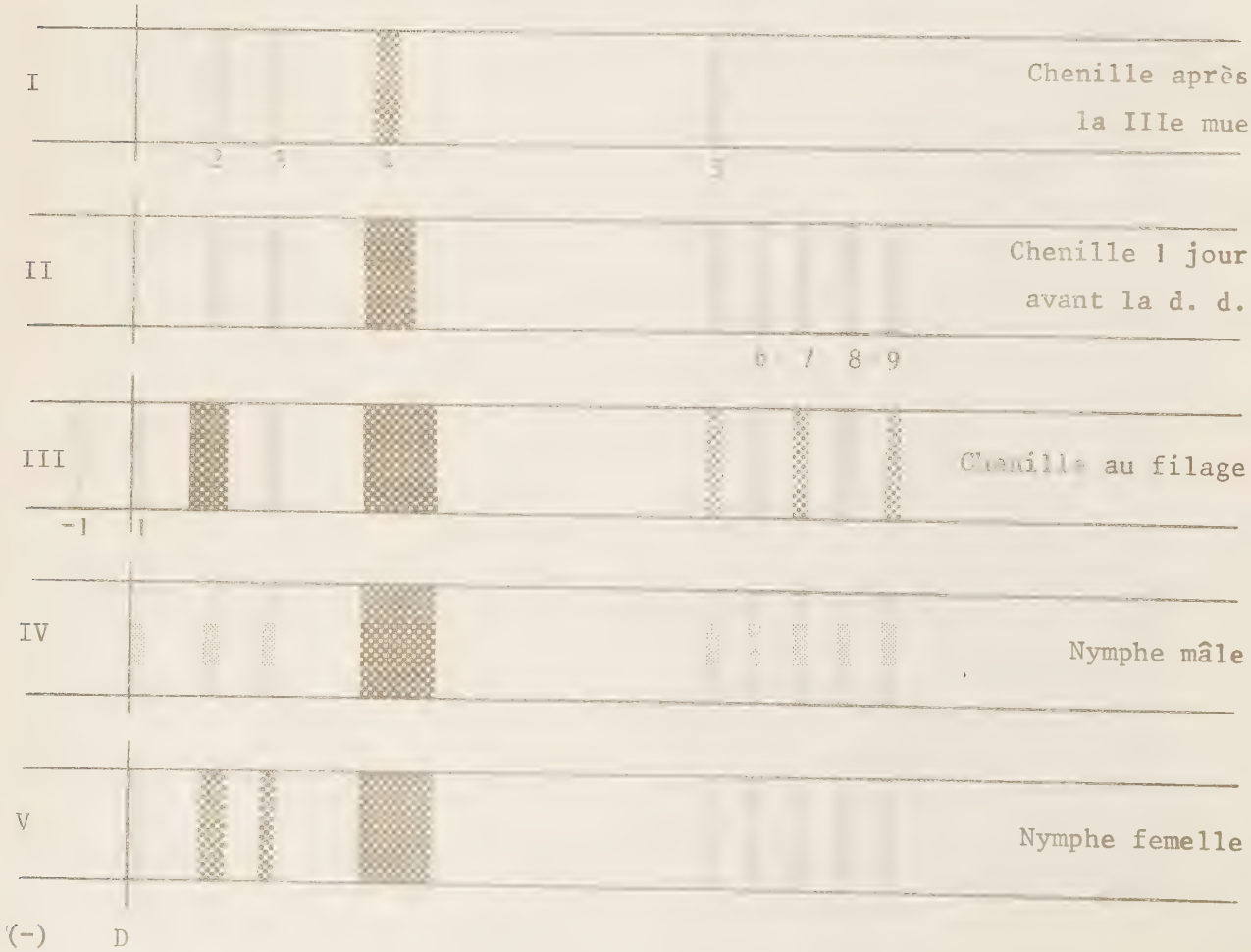
T_{14} : nymphe mâle âgée.

PLANCHE N° XIII

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE D'*ANTHERAEA PERNYI*



(Electrophorèse sur papier)



(Electrophorèse sur gel d'amidon) (+)

PLANCHE N° XIV

évidence un nombre important de fractions protéiques (6) au lieu de 2 décelées par J. M. DENUCE (1955-1956) avec une évolution caractéristique et comparable à celle vue précédemment chez le Ver à soie.

- Au moment du filage, alors que les fractions distales G_4 et G_5 sont les plus concentrées, une fraction G_6 apparaît.

- Au cours de la nymphose, G_6 disparaît, G_4 et G_5 diminuent de concentration alors que G_2 devient plus importante.

III - ANTHERAEA PERNYI

Les chenilles de ce Lépidoptère sont de grande taille et donnent beaucoup d'hémolymphe, même après la Ie mue larvaire.

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° - Les protéines (Planches n° XIII et XIV)

Le tampon véronal seul/u= 0,06, nous permet de mettre en évidence 3 fractions protéiques au maximum : A_1, A_2 et A_3. (A = abréviation de Antheraea et non d'albumine).

- Les fractions A_1 et A_2, lentes à migrer, sont déjà présentes en très faible quantité chez les jeunes chenilles, après les Ire, IIe et IIIe mues (Elect. I - Planche n° XIV -A).

- La fraction A_3 apparaît 4 à 5 jours après la D. M. (Elect. II). Elle se concentre de plus en plus dans l'hémolymphe jusqu'au filage.

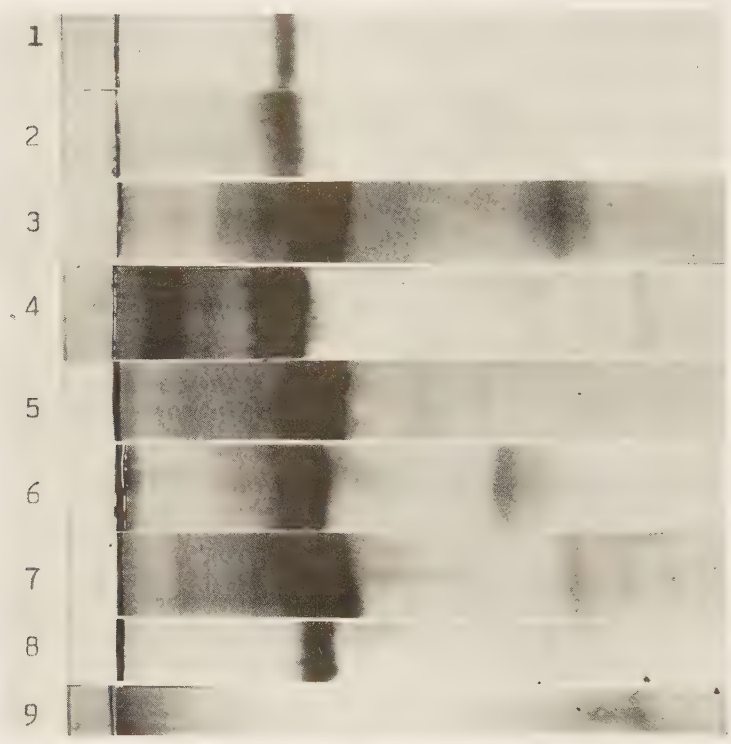
- Si l'on compare l'hémolymphe de prénymphes mâle et femelle, la fraction A_2 est plus importante chez cette dernière. (Elect. III, IV).

Remarque :

Au point de dépôt il y a toujours une grande quantité de protéines non migrantes, quel que soit le stade considéré.

CYCLE ELECTROPHORETIQUE D'*ANTHERAEA PERNYI* NORMAL

(Electrophorèse sur gel d'amidon)



1 - chenille 4 jours après la IIIe mue ;
2 - chenille 6 jours après la IVe mue ;
3 - chenille 1 jour avant la d. d. ;
4 - chenille au filage ;
5 - prénymphe ;
6 - nymphe mâle du jour ;
7 - nymphe femelle du jour ;
8 - nymphe mâle de quelques jours ;
9 - papillon femelle du jour.

PLANCHE N° XV

2° - Glyco et lipoprotéines (Planche n° XXXVII, p.67-68)

Alors que les 3 fractions sont glycoprotéiques avec dominance de A_3, seule A_1 est fortement lipoprotéique. Les protéines non migrantes du point de dépôt sont cénapsées à des glucides et des lipides.

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON (Planches XIV et XV)

L'électrophorèse sur gel d'amidon ne peut être réalisée qu'après la IIIe mue, car l'hémolymphe, bien qu'abondante, est trop pauvre en protéines. Elle permet de déceler au maximum 9 fractions migrant vers l'anode et 1 vers la cathode.

- Après la IIIe et même la IVe mues larvaires, 3 à 4 fractions sont visibles et la fraction 4 domine (Elect. I - Planche n° XIV).

- Ce composé n° 4 se concentre de plus en plus (Elect. II). Il est évident qu'il correspond à la fraction A_3 révélée par électrophorèse sur papier. Au filage, les 9 fractions protéiques sont visibles. La fraction n° 2 est plus importante chez la femelle que chez le mâle (Elect. III).

- Entre nymphes mâle et femelle, des différences quantitatives existent : l'hémolymphe est plus riche en protéines chez la femelle que chez le mâle, les composés n° 2 et 3 étant plus concentrés. La fraction 4 diminue de concentration en fin de nymphose (Elect. IV et V).

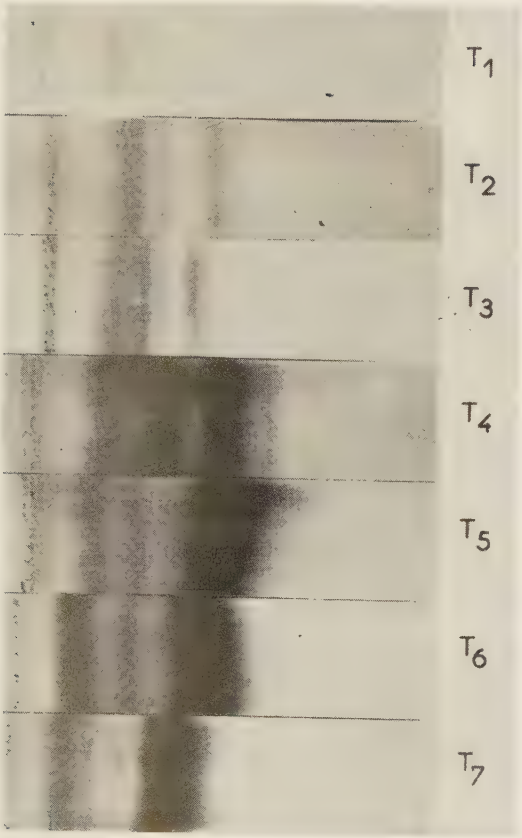
- L'électrophorèse des papillons est difficile à réaliser (peu d'hémolymphe malgré leur grande taille). Chez un papillon femelle du jour, la fraction 1 est importante, de même que les composés (5 à 9) migrant loin. Les fractions 2,3 et 4 semblent avoir disparu.

Conclusions

La grande taille des jeunes chenilles d'Antheraea pernyi nous a permis d'étudier l'hémolymphe des stades très jeunes.

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *PIERIS BRASSICAE* NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : chenille à l'avant-dernier âge ;
T_2 : chenille au moment de la D. M. ;
T_3 : chenille 1 jour après la D. M. ;
T_4 : chenille 5 jours après la D. M. ;
T_5 : prénymphe ;
T_6 : jeune nymphe ;
T_7 : nymphe âgée (90 jours).

PLANCHE N° XVI

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *PIERIS BRASSICAE*

(Electrophorèse sur papier)

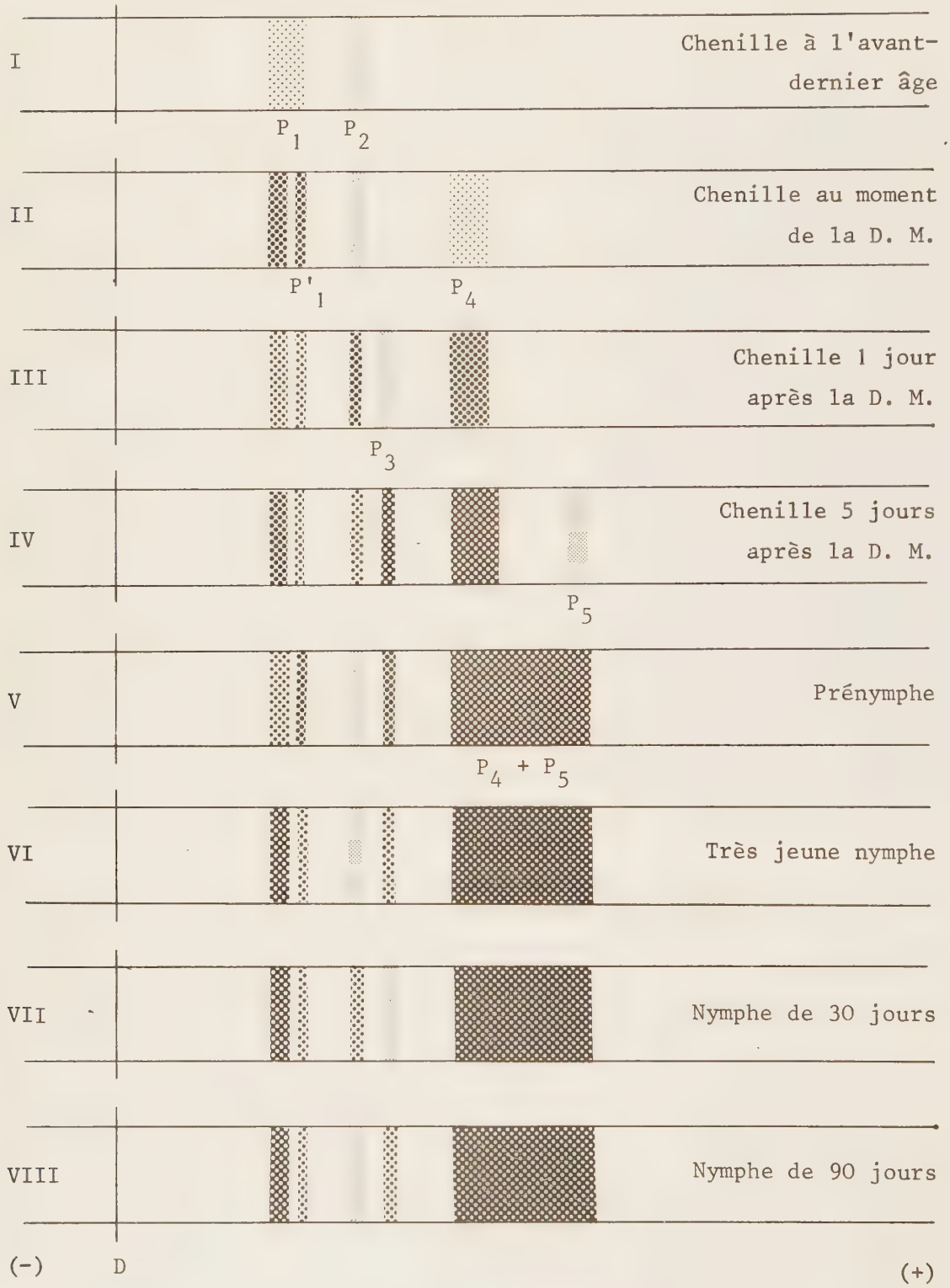


PLANCHE N° XVII

Les protéines de cette abondante hémolymphe sont peu concentrées et caractérisées par une faible vitesse de migration.

Ce n'est qu'après la dernière mue que les protéines migrant loin apparaissent et se concentrent dans l'hémolymphe.

Comme chez le Ver à soie, un dimorphisme sexuel existe à partir de la prénymphose, mais il est d'ordre quantitatif : la fraction A_2 (ou n° 2) est plus abondante chez la femelle que chez le mâle.

IV - PIERIS BRASSICAE

Les chenilles très jeunes et les papillons ont trop peu d'hémolymphe pour qu'une étude complète soit réalisable avec les techniques d'électrophorèse sur papier et gel d'amidon. Nous avons donc utilisé, en plus de ces techniques, un support nécessitant un dépôt quantitativement plus faible : l'acétate de cellulose. Ce support servira tant en électrophorèse classique qu'en immuno-électrophorèse.

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° - Les protéines (Planches n° XVI et XVII)

Avec le tampon Smithies, on constate l'évolution suivante :

- Au 4e âge, on distingue deux fractions protéiques P_1 et P_2, dont la première est la plus importante (Elect. I, Planche n° XVII).

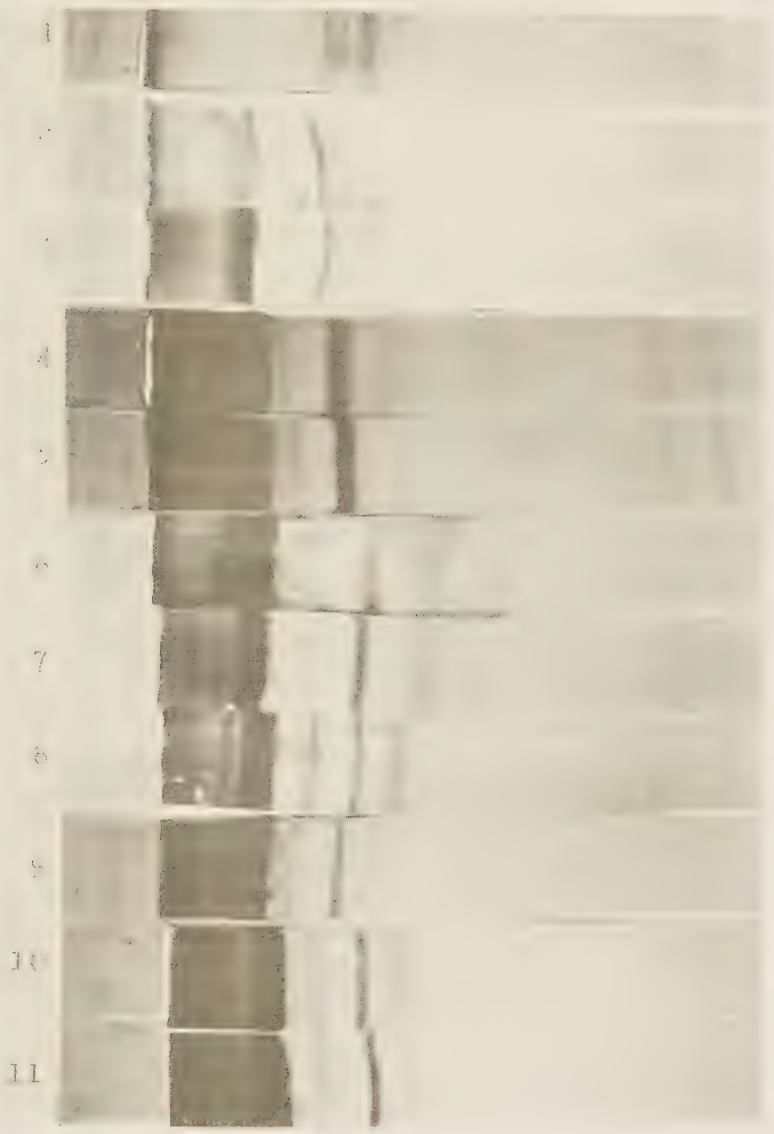
- Au moment de la IVe mue larvaire, un constituant nouveau, P_4, apparaît, alors que P_1 semble être double (P_1, P_1') (Elect. II).

- Un jour après la D. M., un composé supplémentaire P_3 devient visible (Elect. III). Ces constituants sont encore observables 5 jours après la D. M. (Elect. IV). De plus, une fraction P_5 migrant très en avant, est individualisable.

- Chez la prénymphe (Elect. V) comme chez la très jeune nymphe (Elect. VI), la fraction P_4, très concentrée, masque P_5.

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *PIERIS BRASSICAE* NORMA

(Electrophorèse sur gel d'amidon)



1 - chenille après la IIIe mue ;
2 - chenille 1 jour après la D. M. ;
3 - chenille 6 jours après la D. M. ;
4 - chenille 8 jours après la D. M. ;
5 - prénymphe ;
6 - nymphe femelle du jour ;
7 - nymphe mâle du jour ;
8 - nymphe femelle de 5 jours ;
9 - nymphe femelle de 10 jours ;
10 - nymphe mâle de 30 jours ;
11 - nymphe femelle de 30 jours.

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *PIERIS BRASSICAE*

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

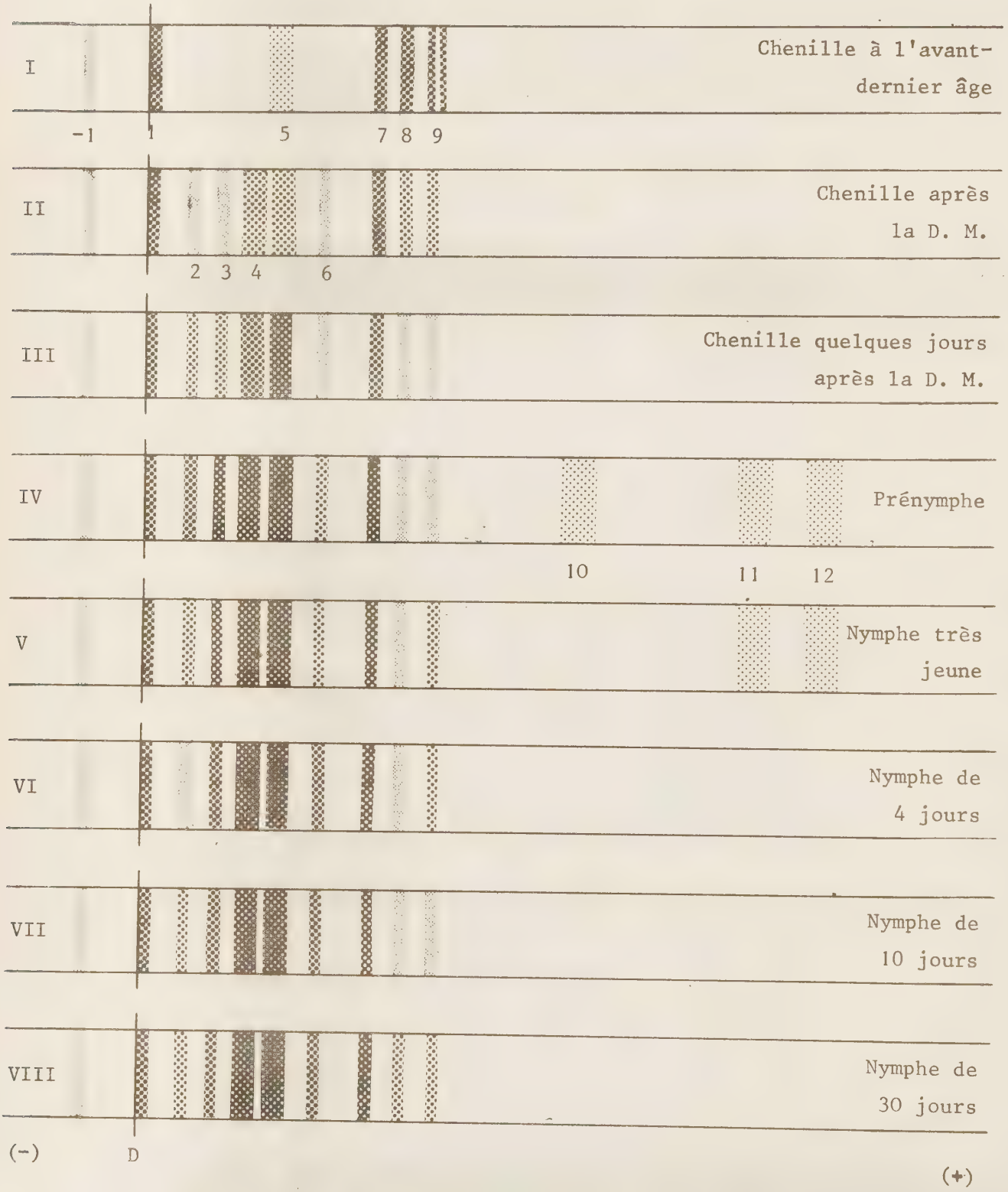


PLANCHE N° XIX

- Les nymphes ont une hémolymphe dans laquelle P_5 est assez rarement visible tant chez le mâle que chez la femelle. Le taux protéique reste élevé et les mêmes fractions observables durant toute la durée de la diapause nymphale (Elect. VII et VIII : nymphes de 30 et 90 jours).

2° - Glyco et lipoprotéines (Planche n° XXXVII, p.67-68)

Les glycoprotéines sont de même type que les protéines, la fraction P_4 étant très importante.

Seule la fraction P_1 est fortement lipoprotéique (c'est d'ailleurs une protéine pigmentaire).

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON
(Planches n° XVIII - XIX).

Les électrophorégrammes obtenus montrent que :

- Vers la cathode ne migre qu'une seule fraction protéique faiblement concentrée quel que soit l'âge de l'animal.

- Vers l'anode migrent au maximum 12 constituants que l'on numérote de 1 à 12 : (E. JUNNIKKALA - 1966 - n'en décèle que 7).

... A l'avant-dernier stade ne sont visibles que 6 fractions, n° 1,5,7,8,9,9' (Elect. I - Planche n° XIX).

... Au début du dernier âge apparaissent les composés n° 2,3,4 et 6 (Elect. II). Très vite, les fractions 4,5 et 7 deviennent dominantes (Elect. III).

... En fin de dernier âge et au moment de la prénymphose, l'ensemble 1 à 5 et la fraction n° 7 sont très fortement concentrés. Très en avant, on voit apparaître les composés 10,11 et 12 (Elect. IV).

... Chez la très jeune nymphe, les mêmes fractions sont visibles, mais celles migrant très en avant sont faiblement concentrées. On ne trouve pas de différence sexuelle (Elect. V). Les fractions 10,11 et 12 disparaissent très vite après la nymphose, et l'on constate l'importante concentration des composants 3,4,5 et 7 chez les nymphes mâles ou femelles de 4 jours (Elect. VI), de 10 jours (Elect. VII), de 30 jours (Elect. VIII), ainsi

ELECTROPHORESE BIDIMENSIONNELLE EN GEL D'AMIDON

(Photo et schéma interprétatif)

PIERIS BRASSICAE : NYMPHE FEMELLE DE 5 JOURS

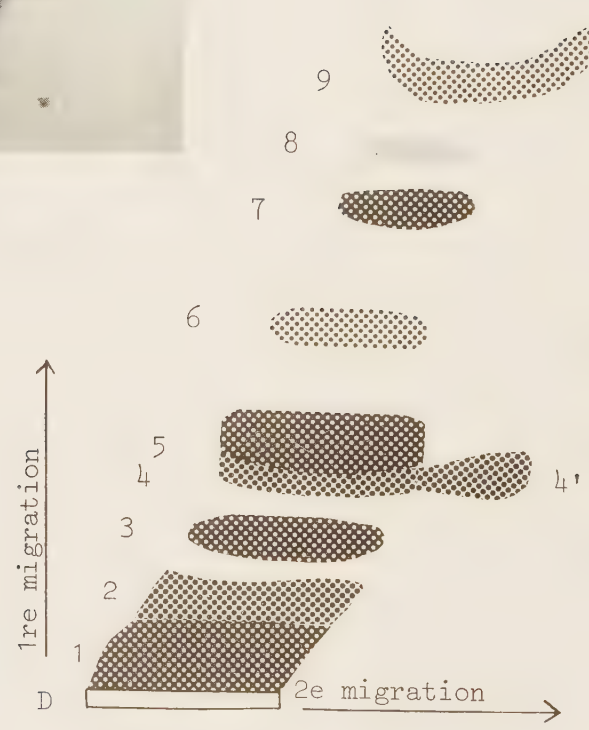


PLANCHE N° XX

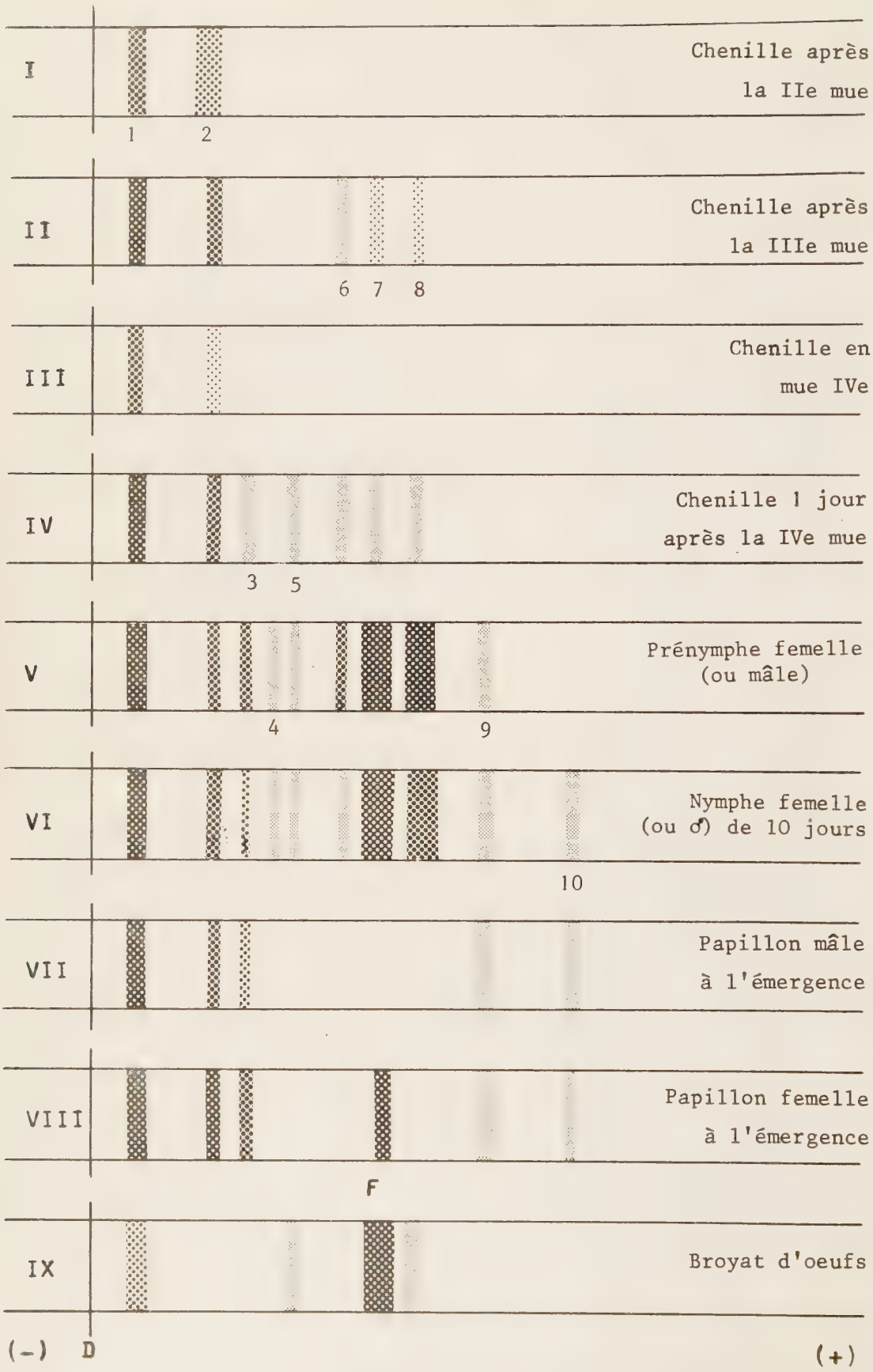
CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *PIERIS BRASSICAE* NORMAL

(Electrophorèse sur acétate de cellulose)

1 - chenille après la IIe mue ;
2 - chenille juste après la IIIe mue ;
3 - chenille quelques jours après la IIIe mue ;
4 - chenille en mue IVe ;
5 - chenille 1 jour après la IVe mue ;
6 - prénymphe mâle ;
7 - prénymphe femelle ;
8 - nymphe mâle du jour ;
9 - nymphe femelle du jour ;
10 - nymphe femelle de 6 jours ;
11 - nymphe femelle de 10 jours ;
12 - nymphe mâle âgée ;
13 - nymphe femelle âgée ;
14 - papillon mâle du jour ;
15 - papillon femelle du jour.

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *PIERIS BRASSICAE*

(Electrophorèse sur acétate de cellulose)



que chez les nymphes très âgées (plusieurs mois). Chez ces nymphes en diapause, le taux protéique reste constamment élevé.

Remarque :

L'électrophorèse en gel d'amidon à deux dimensions, de l'hémolymphe d'une nymphe de 5 jours a été réalisée. L'électrophorégramme obtenu montre les éléments décelés par l'électrophorèse monodimensionnelle, à savoir : 1 fraction migrant vers la cathode et 9 vers l'anode. De plus, elle révèle l'hétérogénéité de la fraction n° 4 (Planche n° XX).

C - ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE

(Planches n° XXI - XXII)

L'électrophorèse sur acétate de cellulose, technique permettant un fractionnement des protéines presque égal à celui obtenu par gel d'amidon*, mais quantitativement moins exigeante (quelques microlitres : 1 à 5 suffisent pour 1 électrophorèse), nous donne la possibilité de faire une étude des protéines de l'hémolymphe au cours du cycle (à peu près complet) de ce Lépidoptère. Les variations observées peuvent être résumées ainsi :

a - 2 fractions protéiques (n° 1 et 2) sont visibles après la IIe mue larvaire (Elect. I - Planche n° XXII).

b - Après la IIIe mue, les fractions 6,7,8 et 9 apparaissent. Elles ne sont plus visibles quand l'animal fait sa IVe mue) (Elect. II - III).

c - Après la IVe mue, ces fractions réapparaissent et se concentrent de plus en plus, de telle sorte qu'au moment de la prénymphose, tant chez le mâle que chez la femelle, 9 fractions sont visibles. Les fractions 7 et 8 sont dominantes (Elect. IV-V).

d - Au début de la nymphose, les 9 composés persistent chez mâle et femelle. En fin de nymphose, une 10e fraction apparaît, alors que les fractions 4 et 5 sont peu visibles. (Elect. VI).

e - Lors de l'émergence, un dimorphisme sexuel protéique apparaît et demeure tout au long de la vie adulte (c'est-à-dire une quinzaine de jours) :

- Chez les mâles (Courbe des pourcentages, Plan-

* Comparer en particulier les électrophorégrammes I, II, IV et VII de la planche n° XIX aux électrophorégrammes II, IV, V et VI de la planche n° XXII.

VARIATIONS RELATIVES (en %) DES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE
CHEZ LES PAPILLONS FEMELLES TEMOINS DE *PIERIS BRASSICAE* L.

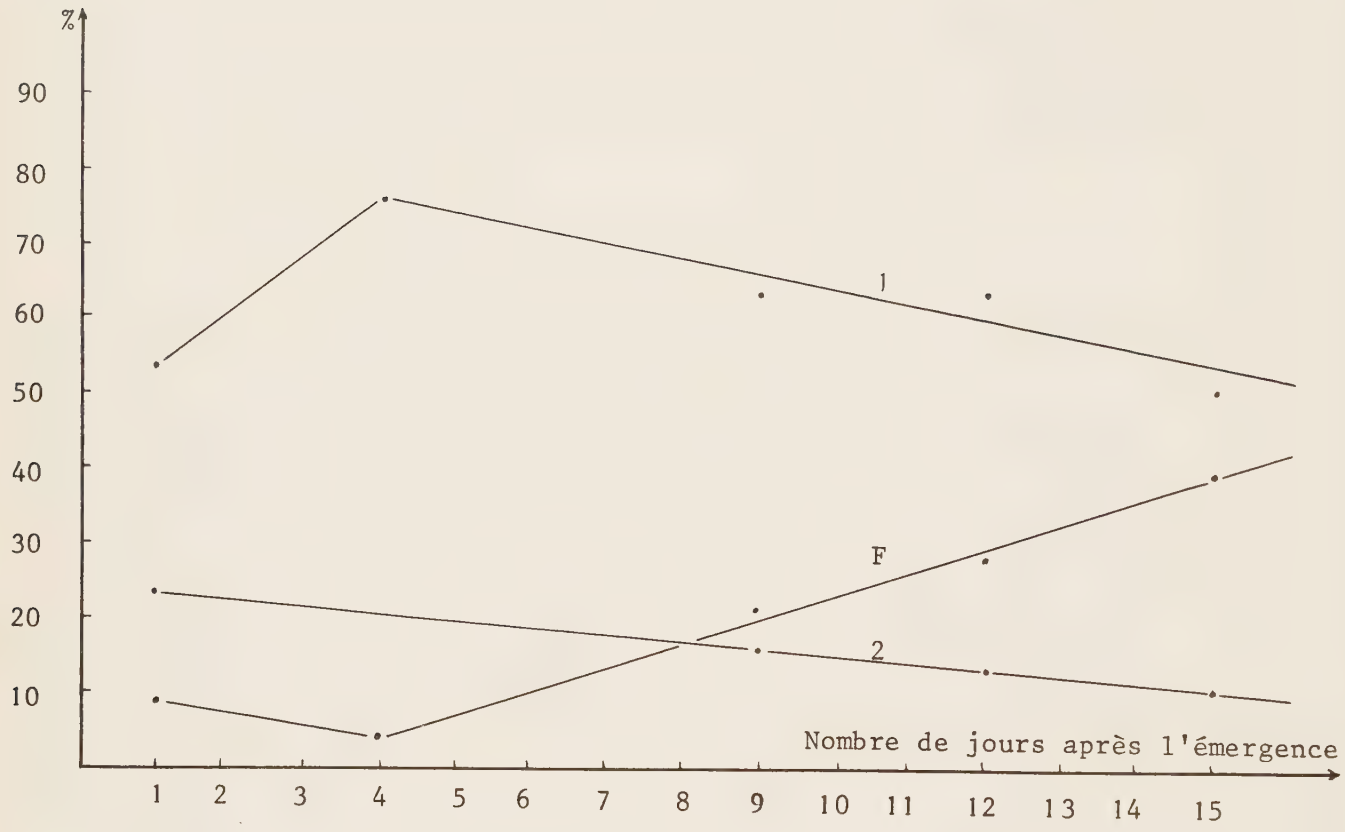


PLANCHE N° XXIII

che n° LV - p. 107 - 108)

... Au moment de l'émergence, les fractions 1,2 et 3 seules sont bien visibles. Les composés 9 et 10, parfois présents, sont très peu concentrés (Elect. VII) ;

... Quelques jours après l'émergence et au cours de la vie imaginale, les fractions 1 et 2 seules sont présentes et leur pourcentage est le suivant : fraction 1, 60 à 80 % ; fraction 2, 40 à 20 %. Ces pourcentages ne semblent pas évoluer de manière bien caractéristique au cours de la vie de l'imago.

- Chez les femelles (Courbe de pourcentages : Planche n° XXIII) :

... Au moment de l'émergence, les fractions 1,2,3, 9 et 10 sont visibles comme chez le mâle, mais de plus une fraction migrant à peu près comme la fraction 7 est présente ; nous la nommons F (Elect. VIII).*

... Quelques jours après l'émergence, seuls les composés 1,2 et F restent en présence, et au cours des 15 jours de vie, leur évolution relative (exprimée en % dans la courbe) est la suivante :

... La fraction 2 diminue progressivement de 20 à 10 % ;

... La fraction F diminue tout d'abord de concentration pendant les 4 à 5 premiers jours, pour augmenter ensuite ;

... La fraction 1 subit (puisqu'il s'agit de %) une évolution inverse à celle de F, à savoir augmentation suivie de diminution.

- Dans un broyat d'oeufs en solution tampon, les protéines solubles observables sont au nombre de 3 ou 4, mais avec une importante concentration d'une fraction migrant comme la protéine F (Elect. IX).

Conclusion

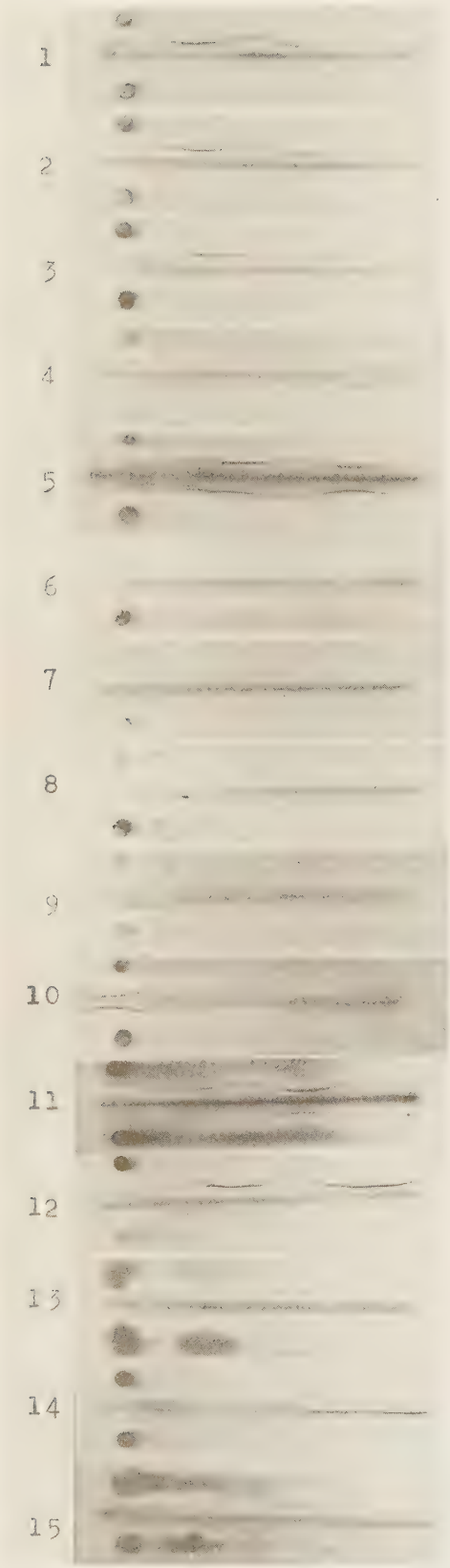
Alors qu'au cours de la vie larvaire et de la nymphose, aucune différence protéique nette n'existait entre l'hémolymphe des mâles et celle des femelles, au moment de l'émergence apparaît, chez les femelles seulement, une protéine F.

L'immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose va nous

* Seule l'immuno-électrophorèse nous permettra de dire s'il y a ou non identité entre les fractions 7 et F.

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *PIERIS BRASSICAE* NORMAL

(Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)



Sérum anti-chenille

1 - chenille en mue IIIe ;
2 - chenille quelques jours après la IIIe mue ;
3 - chenille en mue IVe ;
4 - chenille 1 jour après la IVe mue ;
5 - chenille 4 jours après la IVe mue ;
6 - nymphe mâle de 5 jours ;
7 - nymphe femelle âgée ;
9 - papillon mâle et femelle du jour ;

Sérum anti-oeufs

10 - chenille en mue IIIe ;
11 - chenille quelques jours après la IIIe mue ;
12 - chenille en mue IVe ;
13 - chenille 1 jour après la IVe mue ;
14 - chenille 4 jours après la IVe mue ;
8 - nymphe femelle âgée ;
15 - papillons mâle et femelle du jour.

PLANCHE N° XXIV

permettre de confirmer l'existence de cette protéine F et d'apporter quelques précisions complémentaires.

D - IMMUNO-ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE

Cette technique, adaptée par nous comme indiqué précédemment, donne des résultats très reproductibles et nous permet de continuer à utiliser l'acétate de cellulose, support le plus favorable à l'étude de petites quantités d'hémolymphe.

Deux antisérums de lapin ont été préparés :

- l'un avec de l'hémolymphe de chenilles femelles en fin de dernier âge (un peu avant la prénymphose) ;
- l'autre avec du broyat d'oeufs en solution physiologique (oeufs de 1 à 2 jours après la ponte).

Les résultats sont les suivants :

1° Avec le sérum anti-chenille

(Planches n° XXIV, XXV)

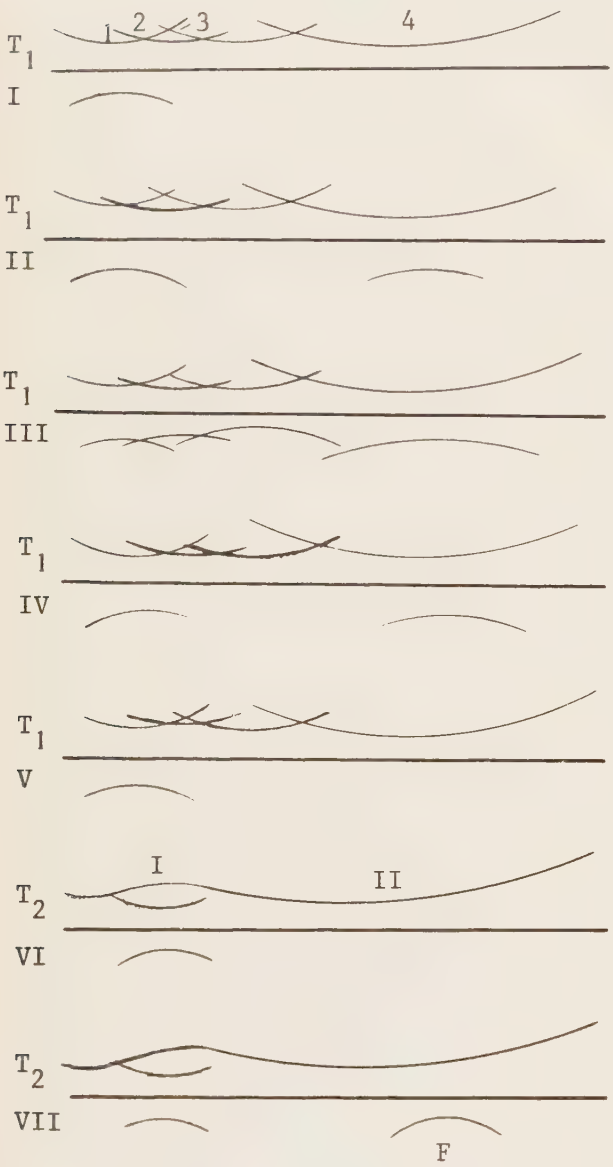
L'immuno-électrophorèse de l'hémolymphe d'une chenille femelle en fin de dernier âge (identique donc à celle qui a permis d'obtenir l'antisérum) montre 4 arcs de précipitation (arcs 1 à 4). Elle servira d'immuno-électrophorèse de référence (T_1).

Au cours du cycle biologique normal, l'évolution est la suivante :

- de l'éclosion au début du dernier âge (24 h après la IV_e mue larvaire), 1 seul arc de précipitation (arc 1) est visible (Elect. I - Planche n° XXV) ;
- après la IVe mue, chez mâle et femelle, 4 arcs deviennent progressivement visibles : arcs 1,2,3 et 4 (Elect. II-III) ;
- en fin de nymphose, les arcs 2,3 puis 4 disparaissent progressivement, et 24 à 48 heures avant l'émergence, seul l'arc 1 reste visible (Elect. IV) ;
- au moment de l'émergence et durant toute la vie imaginale du mâle et de la femelle, l'arc 1 seul est décelable (Elect. V).

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *PIERIS BRASSICAE*

(Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)



Sérum anti-chenille :

T_1 : Chenille femelle en fin de dernier âge ;

I : Chenille jeune ;

II : Chenille 2 à 3 jours après la IVe mue ;

III : Nymphe jeune ;

IV : Nymphe de 8 jours ;

V : Nymphe âgée ; Papillon mâle ou femelle.

Sérum anti-oeufs :

T_2 : Broyat d'oeufs ;

VI : Chenille jeune ; Nymphe ; Papillon mâle ;

VII : Papillon femelle ;

Technique de la fente courbe.

PLANCHE N° XXV

2° - Avec le sérum anti-oeufs
(Planches n° XXIV, XXV)

L'immuno-électrophorèse du broyat d'oeufs montre 2 arcs de précipitation : arc I court, et arc II très long. Elle nous servira de témoin (T_2).

- Pendant la vie larvaire et nymphale, 1 seul arc de précipitation apparaît chez mâle et femelle : arc I (Elect. VI);

- 24 à 48 heures avant l'émergence, c'est-à-dire alors que le papillon devient visible sous la cuticule de la nymphe, et seulement chez la femelle, un arc de précipitation supplémentaire devient visible et persiste durant toute la vie imaginale de la ♀ : c'est l'arc F (Elect. VII) ;

- Chez le papillon mâle, seul l'arc I est présent.

Identité entre arc II et arc F :

Par la technique de la fente courbe, qui consiste à faire un dépôt d'antisérum plus court, on observe que l'arc II très long et l'arc plus court F se réunissent parfaitement, preuve de l'identité de ces deux arcs (Planche n° XXV).

- Au cours de l'embryogenèse (5 à 6 jours), on constate que l'arc F (ex- arc II) devient de plus en plus court, l'arc I ne semblant pas particulièrement affecté.

Conclusions

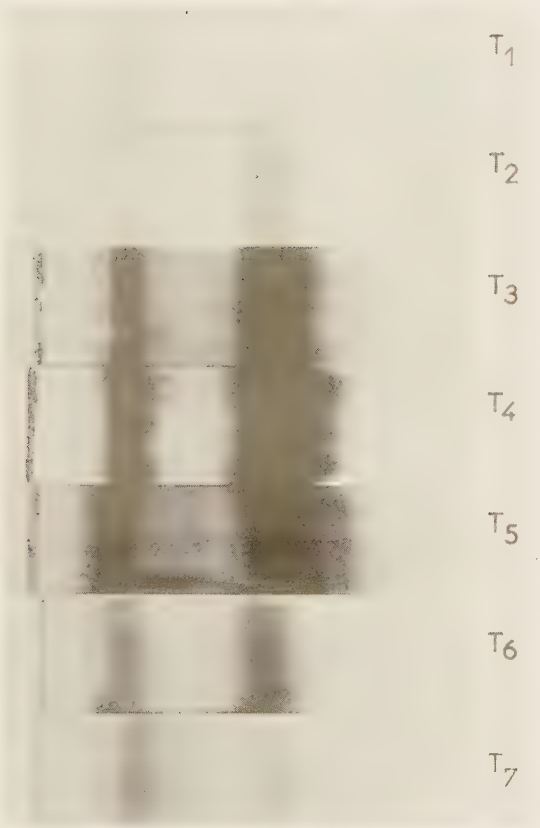
Par immuno-électrophorèse :

1° - Nous confirmons bien, et de manière irréfutable, l'existence d'une différence protéique entre mâle et femelle ;

2° - Nous précisons que cette différence apparaît 24 à 48 heures avant l'émergence, c'est-à-dire en fin de nymphose, quand l'imago devient visible sous la cuticule ;

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *LYMANTRIA DISPAR* MALE NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : chenille juste après la IVe mue ;

T_2 : chenille 3 jours après la D. M. ;

T_3 : chenille 8 jours après la D. M. ;

T_4 : chenille au filage ;

T_5 : nymphe de 2 jours ;

T_6 : nymphe de 6 jours ;

T_7 : nymphe de 14 jours.

PLANCHE N° XXVI

3° - Nous affirmons que cette protéine F qui, par électrophorèse sur acétate de cellulose, migrait "à peu près comme la 7", (fraction commune aux chenilles et aux nymphes), en diffère par sa nature. Elle est donc caractéristique du stade imago ♀, et n'est à aucun moment présente dans l'hémolymphe des mâles.

V - LYMANTRIA DISPAR

Rappelons que chez cette espèce, les mâles font 4 mues larvaires alors que les femelles en font 5. Il en résulte un dimorphisme sexuel net : les nymphes et papillons mâles sont de taille réduite par rapport à celle des femelles. L'étude des protéines de ces derniers ne pourra être faite par électrophorèse sur papier ou gel d'amidon.

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° - Les protéines

7 fractions protéiques (L_1 à L_7) au maximum sont séparables par électrophorèse sur papier, grâce au tampon Smithies.

a - Cycle des mâles

(Planches n° XXVI, XXVIII - Elect. I à IV)

L'évolution des protéines au cours du cycle biologique est la suivante :

- Du début du dernier âge (juste après la IVe mue) à la fin (filage), le nombre de fractions protéiques augmente de 3 à 6, avec une concentration de plus en plus grande de la dernière (L_6) (Elect. T_1 à T_3 - Planche n° XXVI).

- Au moment du filage et chez la prénymphe, une fraction L_7 apparaît et le composé L_2 a acquis une très forte concentration (Elect. T_4).

- Au cours de la nymphose, les composés migrant le plus tendent à disparaître (L_5, L_6, L_7), alors que ceux migrant peu (L_1, L_2, L_3) sont encore visibles (Elect. T_5 à T_7).

b - Cycle des femelles

(Planches n° XXVII et XXVIII - Elect. V à IX)

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *LYMANTRIA DISPAR*

(Electrophorèse sur papier)

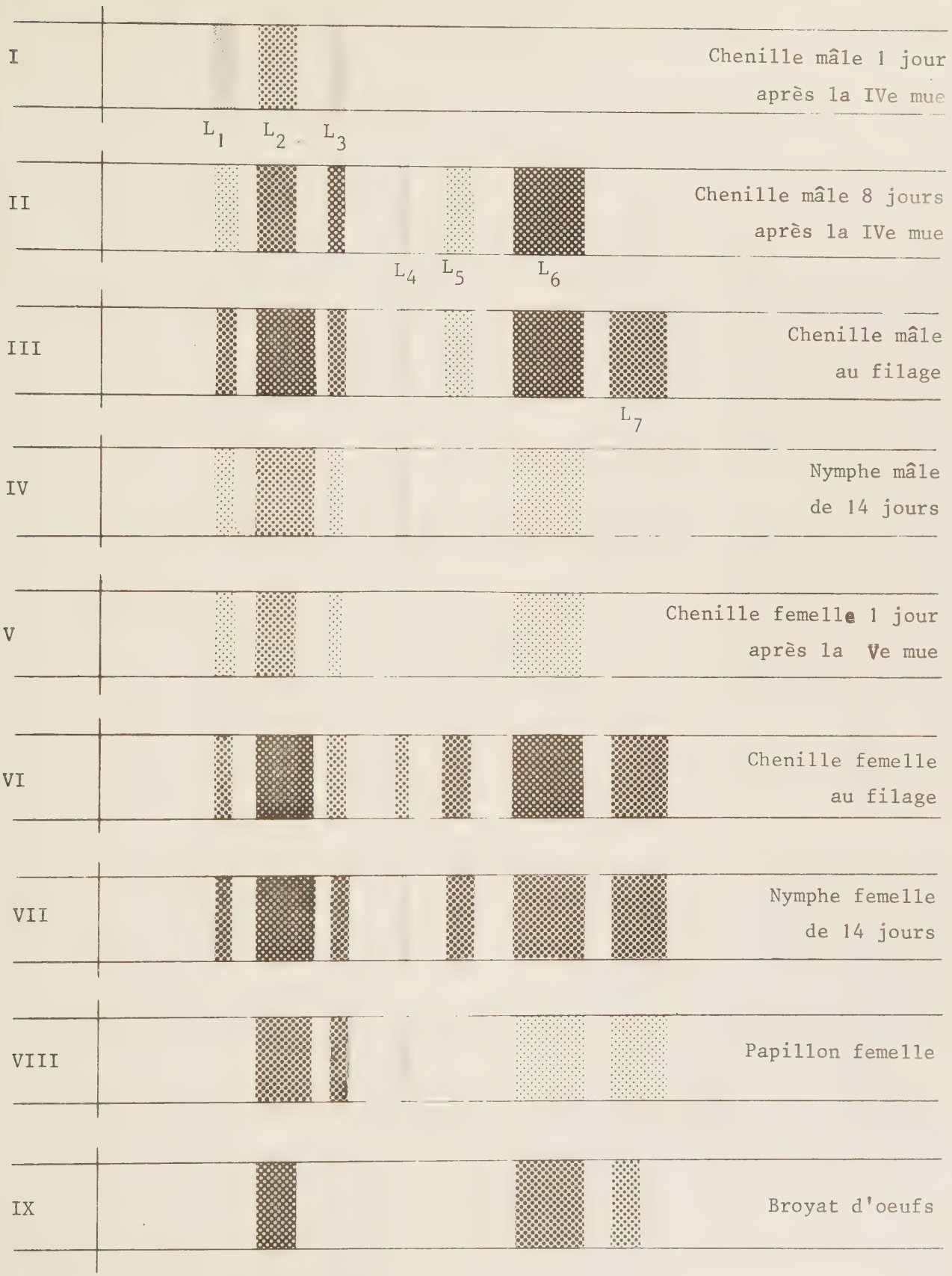
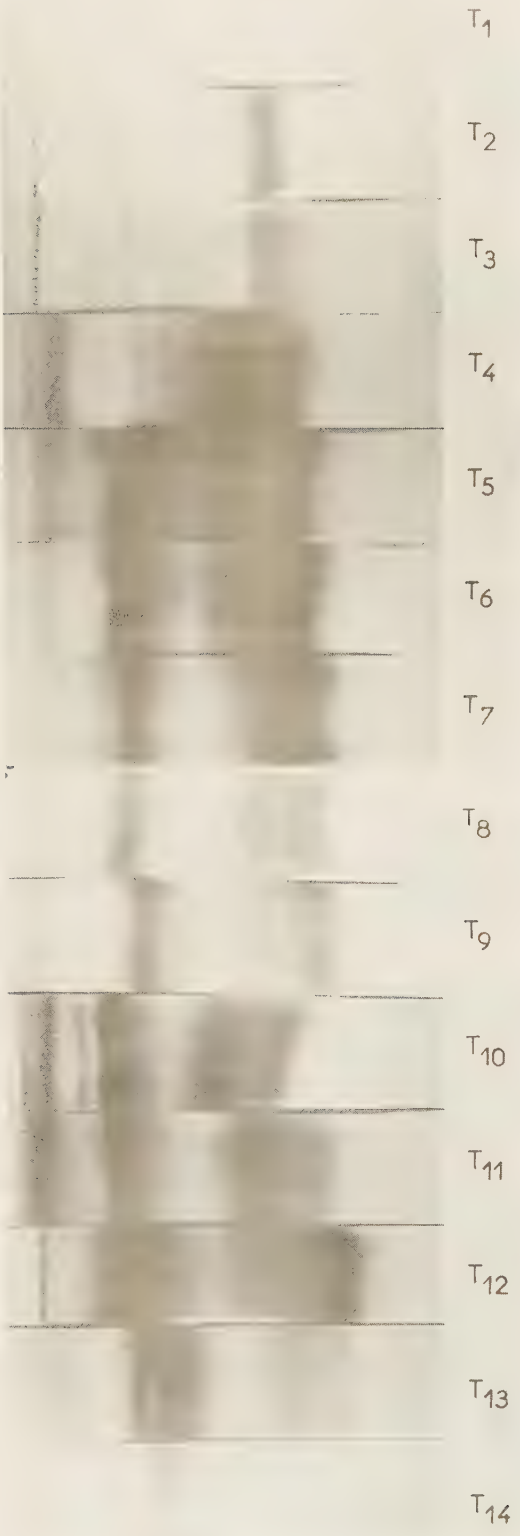


PLANCHE N° XXVIII

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *LYMANTRIA DISPAR* FEMELLE NORMALE

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : chenille au moment de la Ve mue ;
T_2 : chenille 2 jours après la Ve mue ;
T_3 : chenille 4 jours après la Ve mue ;
T_4 : chenille 6 jours après la Ve mue ;
T_5 : chenille au filage ;
T_6 : prénymphe ;
T_7 : nymphe du jour ;
T_8 : nymphe de 1 jour ;
T_9 : nymphe de 3 jours ;
T_{10} : nymphe de 5 jours ;
T_{11} : nymphe de 7 jours ;
T_{12} : nymphe de 14 jours ;
T_{13} : papillon à l'émergence ;
T_{14} : papillon âgé.

PLANCHE N° XXVII

Les mêmes observations générales sont à faire, à quelques variantes près :

- Au moment de la Ve mue larvaire, la fraction L_6 est déjà visible (Elect. T_1 de la Planche n° XXVII), alors qu'elle ne l'était pas au moment de la IVe chez le mâle. Le nombre de fractions augmente donc de 4 à 6 du début du dernier âge au moment du filage, avec synthèse de plus en plus grande de la fraction L_6 (Elect. T_2 à T_4). Notons que cette fraction L_6 apparaît comme étant une chromoprotéine, et de ce fait est visible à l'observation directe des électrophorégrammes avant coloration, aussi bien chez le mâle que chez la femelle.

- C'est lors du filage et de la prénymphose que l'hémolymphe est la plus riche en protéines, et, des 7 constituants observables, L_2 et L_6 sont les plus importants (Elect. T_5 - T_6). La fraction L_2 est alors chromoprotéique.

- Au cours de la nymphose, ces 7 mêmes fractions protéiques sont visibles avec prédominance de l'ensemble L_1, L_2 et L_3 (Elect. T_7 à T_{12}).

- Lors de l'émergence, les fractions L_2 et L_3 sont très concentrées alors que L_6 et L_7 semblent avoir été utilisées par l'animal (Elect. T_{13}) ; elles ont complètement disparu chez un papillon accouplé depuis quelques jours (Elect. T_{14} et Elect. V à VIII de la planche n° XXVIII).

- Si des oeufs sont broyés dans un peu de tampon Smithies, l'électrophorèse montre 3 protéines solubles correspondant à L_2, L_6 et L_7 (Elect. IX - Planche n° XXVIII).

Il est à noter qu'au moment du filage apparaît au point de dépôt une fraction protéique non migrante ; celle-ci persiste tout au long du cycle biologique.

2° - Glyco et lipoprotéines

(Planche n° XXXVII, p. 67-68)

L'étude des glyco et lipoprotéines montre que :

- Chez une femelle en fin de dernier âge chez laquelle 6 fractions protéiques sont décelables, les fractions L_2 et L_6 sont glycoprotéiques avec prédominance de cette

dernière, alors que L_2 est fortement lipoprotéique par rapport à L_3, L_4 et L_5. L_6 ne l'est pas ;

- Chez une nymphe femelle de 4 jours, la fraction L_2, chromoprotéique, est glyco et lipoprotéique. Le composé L_6 n'est que glycoprotéique mais très peu concentré. Les fractions L_3, L_4 et L_5 sont encore faiblement lipoprotéiques.

Au point de dépôt, on constate que la fraction protéique non migrante est à la fois glyco et lipoprotéique, et ceci de manière plus importante chez la nymphe que chez la chenille.

Conclusions

Au cours du cycle biologique, les faits suivants se dégagent de cette étude :

- Du début du dernier âge au filage, une fraction L_6 est synthétisée et s'accumule dans l'hémolymphe ; elle est associée à des glucides et semble dépourvue de lipides ;

- Du filage à la nymphose, un composé L_2 devient prépondérant : c'est une chromoprotéine porteuse à la fois de glucides et de lipides. Une utilisation importante des glucides de la fraction L_6 s'est opérée pendant cette période, les lipides ne semblant pas s'être modifiés ;

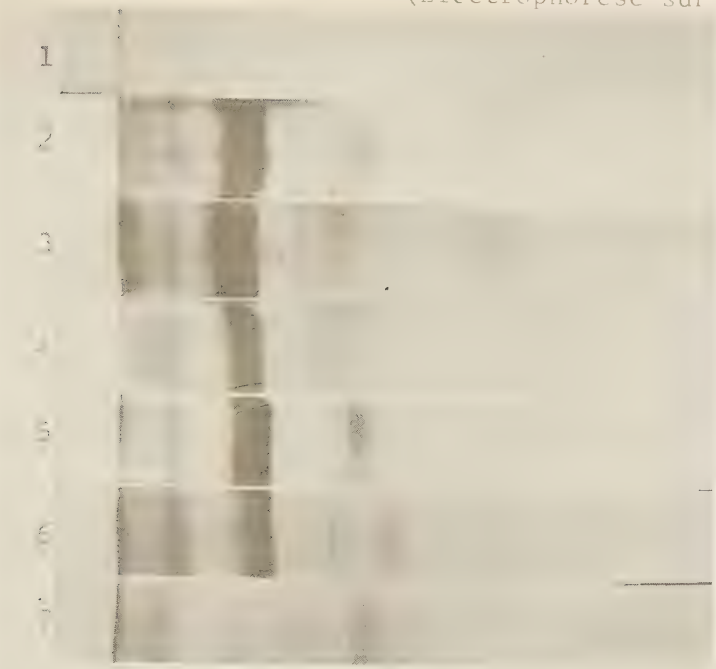
- Au cours de la nymphose chez la femelle, les fractions protéiques restent à un taux très important, avec prédominance de l'ensemble L_1, L_2 et L_3 ;

- A l'émergence et au cours du vieillissement de l'imago, toutes les fractions sont utilisées, L_2 et L_3 étant les seules à ne pas l'être entièrement ;

Il est difficile de comparer mâles et femelles car ces dernières font une mue larvaire supplémentaire. Il en résulte que chez les animaux venant de faire la IVe mue larvaire (mâles), la fraction L_6 n'est pas encore visible, alors qu'elle l'est chez ceux venant de faire la Ve (femelles). On ne peut pas dire qu'il y ait différence car la femelle est, en fait, plus âgée que le mâle. Du filage à la nymphose, les faits d'en-

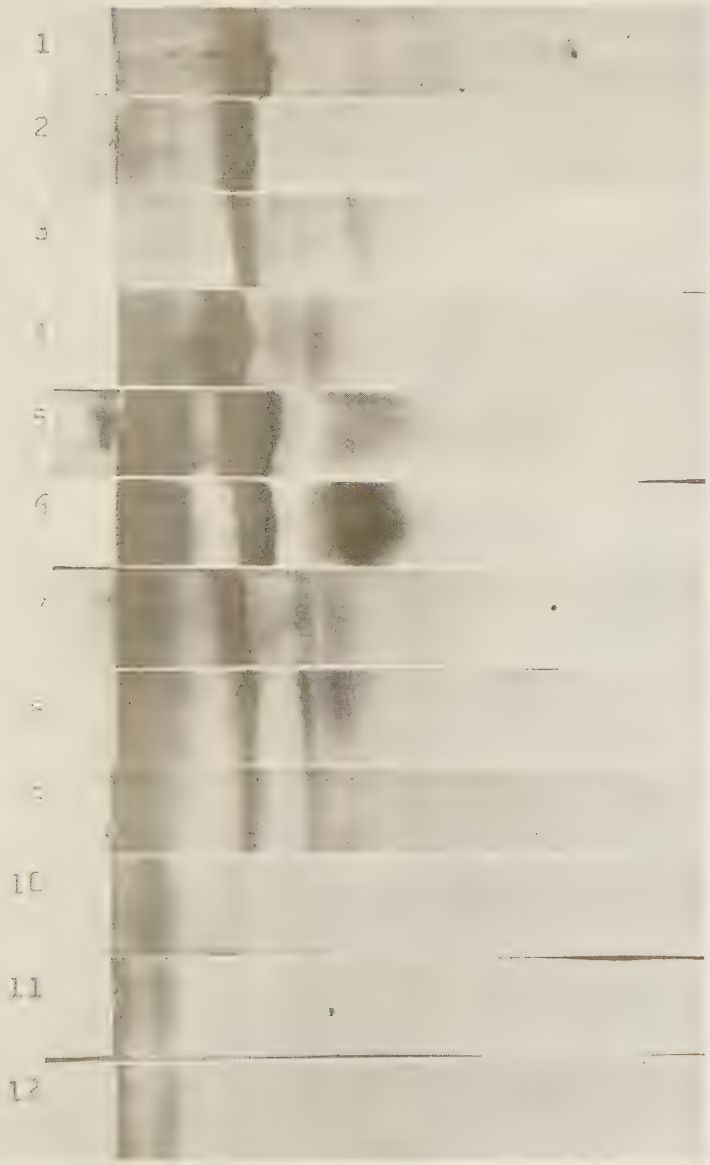
CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *LYMANTRIA DISPAR* NORMAL

(Electrophorèse sur gel d'amidon)



Mâle

1 - chenille 1 jour après IVe mue ;
2 - chenille 4 jours après IVe mue ;
3 - chenille au filage ;
4 - prénymphe ;
5 - nymphe du jour ;
6 - nymphe de 3 jours ;
7 - nymphe de 18 jours ;



Femelle

1 - chenille avant la Ve mue ;
2 - chenille en mue Ve ;
3 - chenille 3 jours après la Ve mue ;
4 - chenille 5 jours après la Ve mue ;
5 - prénymphe ;
6 - nymphe du jour ;
7 - nymphe de 2 jours ;
8 - nymphe de 3 jours ;
9 - nymphe de 6 jours ;
10 - nymphe de 14 jours ;
11 - papillon du jour ;
12 - papillon de 1 jour.

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *LYMANTRIA DISPAR*

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

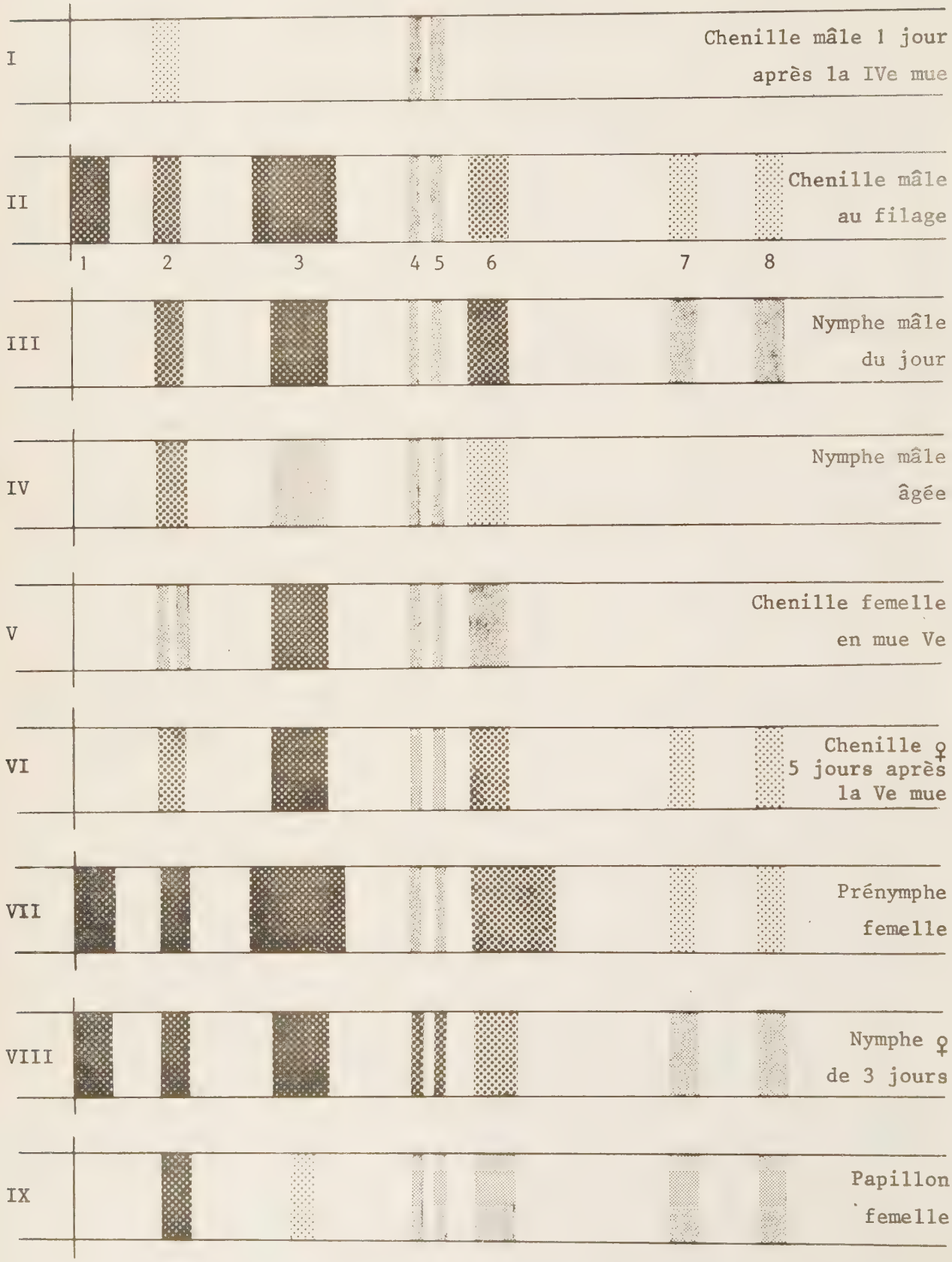


PLANCHE N° XXX

semble sont identiques.

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON A UNE DIMENSION

(Planches n° XXIX et XXX).

1° - Cycle des mâles

Les 8 fractions protéiques visibles seront numérotées de 1 à 8.

L'évolution au cours du cycle biologique est la suivante (Planche n° XXX) :

- Lorsque l'animal vient de faire sa IVe mue larvaire, son hémolymphe est très pauvre en protéines : 2 ou 3 composés faiblement concentrés sont visibles. (Elect. I).;

- Jusqu'au filage, le nombre de ces fractions augmente jusqu'à 8. La fraction n° 3, très importante, domine. Une protéine n° 1, migrant très peu, est également très concentrée (Elect. II).;

- Chez les nymphes de plus en plus âgées, la fraction n° 3 reste dominante, la n° 1 disparaissant pratiquement. Chez une nymphe très âgée (de 18 jours), la fraction n° 3 a presque complètement disparu, la n° 2 restant encore très visible. (Elect. III et IV).

2° - Cycle des femelles (Planche n° XXX)

- En mue Ve ou même un peu avant, les fractions protéiques sont considérablement concentrées (si on les compare à celles des mâles), et la fraction n° 3 est très importante. Elle reste dominante et se concentre jusqu'au filage (Elect. V).

- Lors du filage, une fraction migrant très peu (n° 1) apparaît, et l'ensemble 1 + 2 est aussi concentré que le composé n° 3 (Elect. VI).

- Au cours de la nymphose, la fraction n° 3 diminue d'importance par rapport à 1 + 2 (Elect. VII et VIII).

- A l'émergence, la fraction 2 reste très concentrée, alors que les autres, 1 et 3 en particulier, le sont

ELECTROPHORESE BIDIMENSIONNELLE EN GEL D'AMIDON

(Photo et schéma interprétatif)

LYMANTRIA DISPAR : NYMPHE FEMELLE

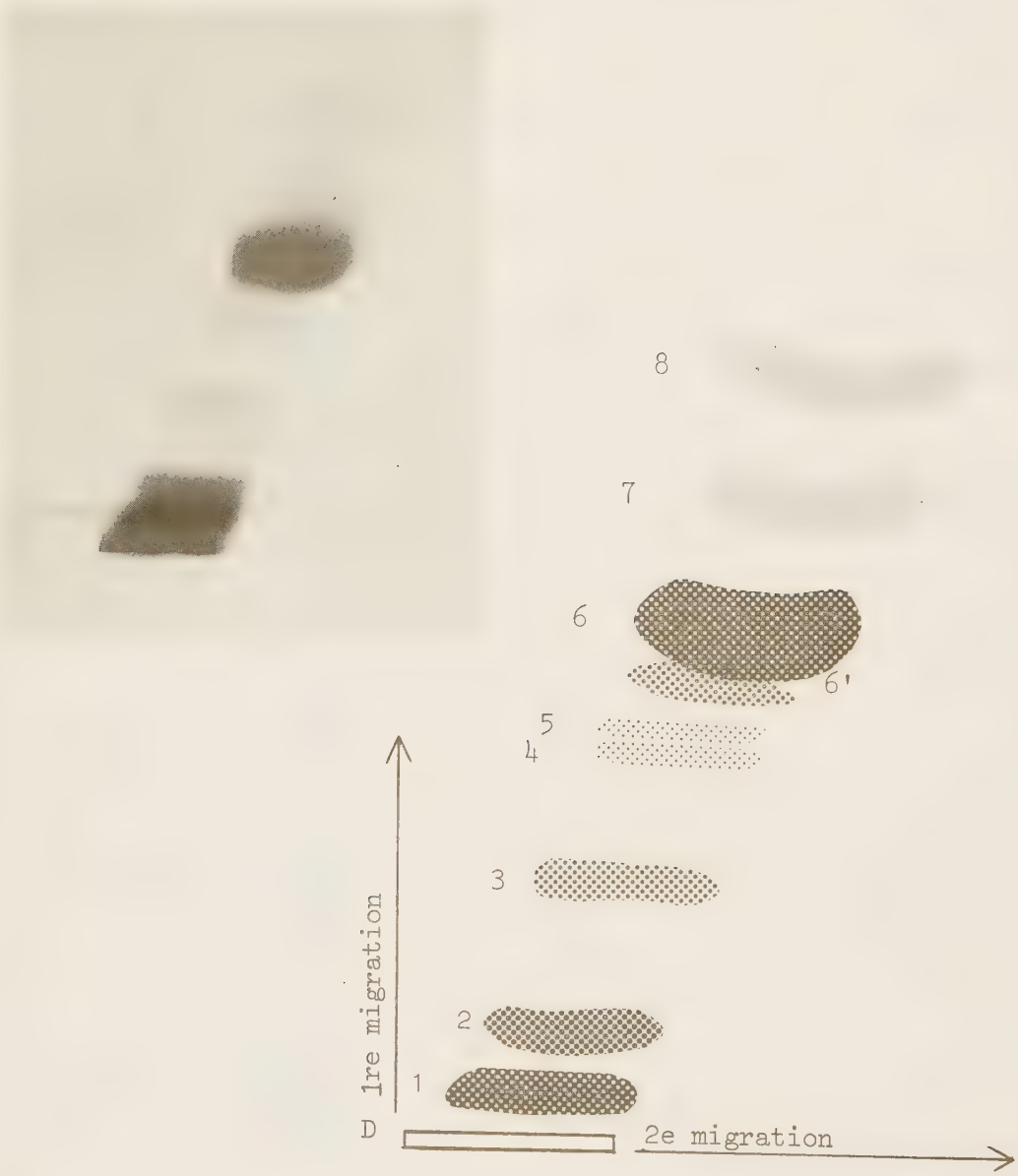


PLANCHE N° XXXI

très peu (Elect. IX).

- Un broyat d'oeufs dans du tampon Smithies montre deux protéines solubles très importantes correspondant à 2 et 3.

Remarque :

L'électrophorèse sur gel d'amidon à deux dimensions confirme l'inexistence de protéines migrant vers la cathode et la présence de 8 fractions migrant vers l'anode, et permet de révéler l'hétérogénéité de la fraction n° 6 (Planche n° XXXI).

Conclusions

Il ressort de cette étude qu'une différence sexuelle s'établit au moment du filage et de la nymphose, et est caractérisée par l'apparition et le maintien d'une fraction protéique migrant peu et appelée par nous n° 1, chez la femelle essentiellement. Cette fraction apparaît chez les mâles au filage mais disparaît très rapidement après la nymphose.

La "différence" observée par électrophorèse sur papier, entre chenilles venant de faire la Ve mue larvaire (femelles) et la IVe (mâles) est retrouvée par électrophorèse sur gel d'amidon.

VI - THAUMETOPOEA PITYOCAMPA

A - ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° - Les protéines (Planches n° XXXII et XXXIV)

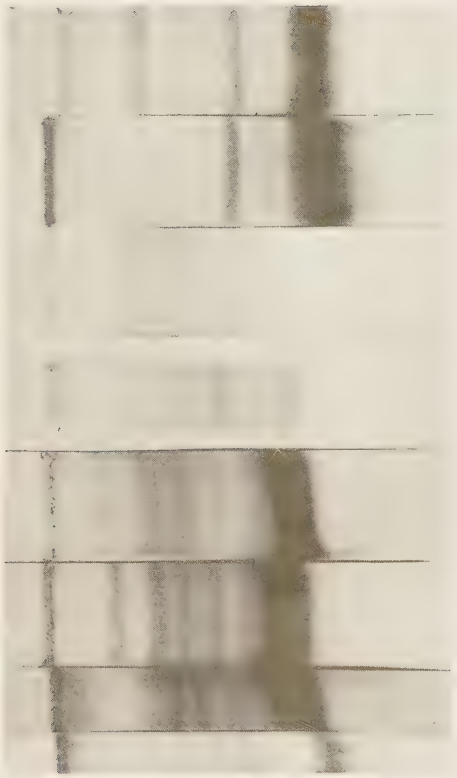
Six fractions sont décelables en utilisant le tampon Véronal + acide borique. A. DRILHON (1959) indique n'avoir observé que "2 fractions principales, la plus distale étant la plus importante, l'autre quelquefois divisée en deux fractions accolées".

De la IIIe mue larvaire au stade nymphal, les variations sont les suivantes :

- Au milieu du stade L_4 (après la IIIe mue, soit au 4e âge) ou à la fin de ce stade, l'hémolymphe est verte et contient 6 fractions protéiques que nous numérotons Th_1 à Th_6 ; les

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* NORMAL

(Electrophorèse sur papier)



T_1 : Chenille au milieu de l'avant-dernier âge ;

T_2 : Chenille en fin d'avant-dernier âge ;

T_3 : Chenille venant de faire la D. M. ;

T_4 : Chenille 5 jours après la D. M. ;

T_5 : Chenille 2 mois après la D. M. ;

T_6 : Chenille plusieurs mois après la D. M. ;

T_7 : { prénymphe ; nymphe.

PLANCHE N° XXXII

CYCLE ELECTROPHORETIQUE DE *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* NORMAL

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

1 - Chenille à l'avant-dernier âge ;

2 - Chenille en mue IVe (D. M.) ;

3 - Chenille 10 jours après la D. M. ;

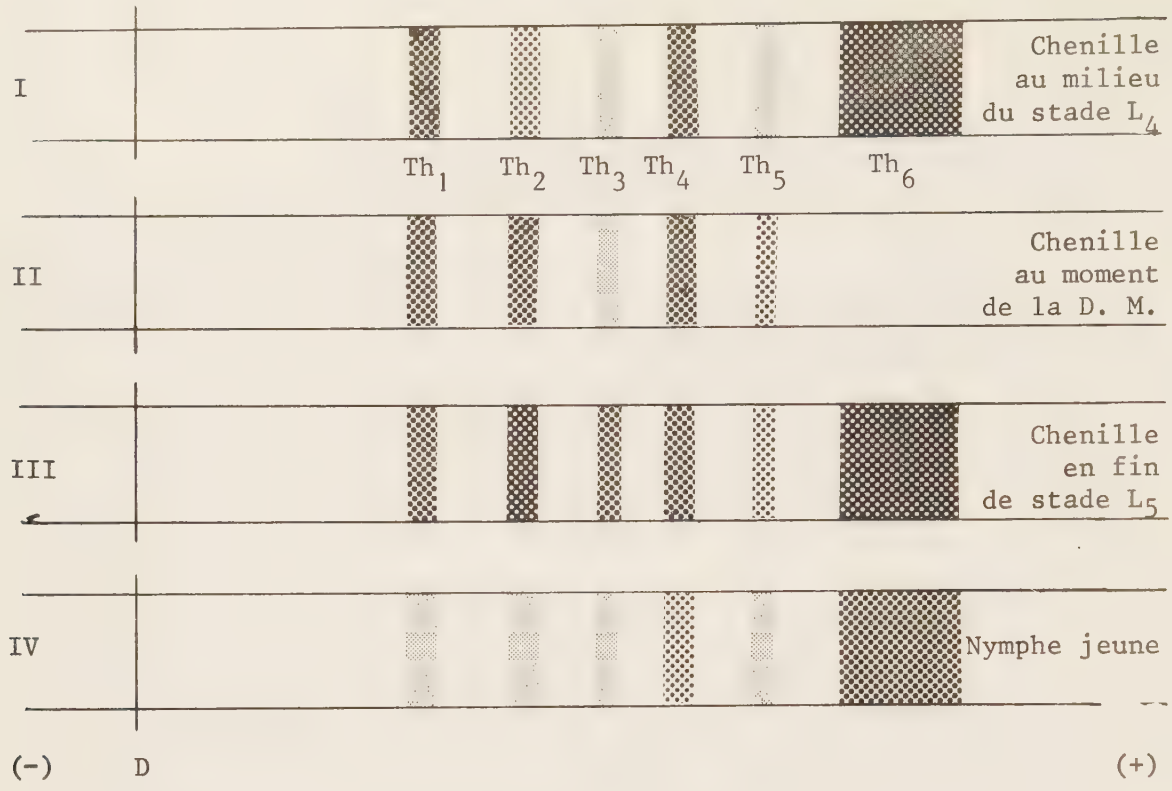
4 - Chenille en fin de dernier âge : { hémolymphe entière ; hémolymphe diluée ;

5 - Chenille au filage (enterrée) : { hémolymphe entière ; hémolymphe diluée ;

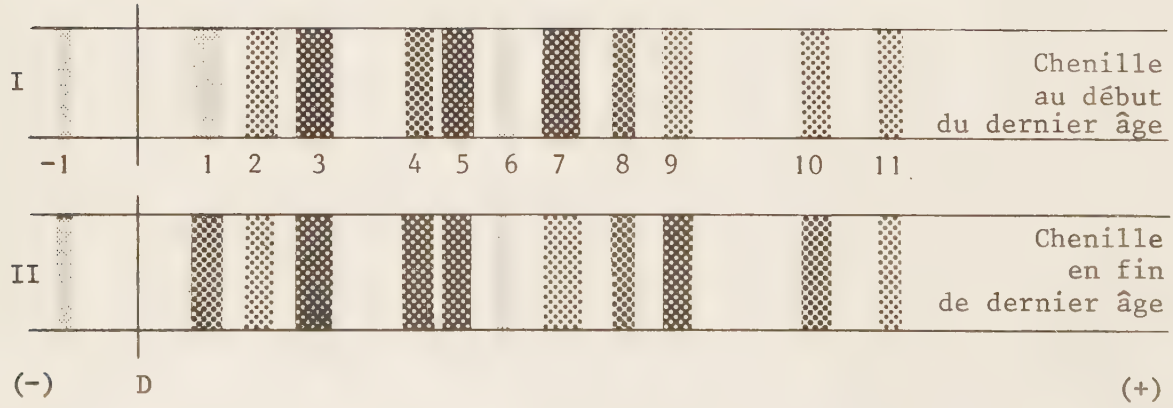
6 - Nymphe de 5 jours { hémolymphe entière ; hémolymphe diluée.

PLANCHE N° XXXIII

SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES DE L'HEMOLYMPHE DE *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA*



(Electrophorèse sur papier)



(Electrophorèse sur gel d'amidon)

PLANCHE N° XXXIV

fractions Th_4 et Th_6 sont les plus concentrées (Elect. I - Planche n° XXXIV).

- Quand les chenilles viennent de muer (IVe et D. M.), leur aspect est très brillant, l'hémolymphe est jaune et non plus verte, et la fraction Th_6, la plus importante au stade précédant, n'existe plus. Cinq fractions sont alors visibles, mais elles sont en très faible quantité (coloration faible par l'"amido-schwarz") (Elect. II).

- Peu de jours après la D. M., Th_6 redevient visible et les 6 fractions sont en quantité à peu près égale. Cette fraction Th_6 va croître continuellement jusqu'à la nymphose. Pendant ce dernier stade larvaire, la fraction Th_2 devient plus concentrée (Elect. III).

- Au moment de la prénymphose et de la nymphose, les protéines non migrantes du dépôt augmentent considérablement, d'où la diminution relative des 6 protéines migrantes qui sont cependant encore visibles. Il n'y a pas, lors de la nymphose, cette variation caractéristique qui accompagne la D. M. (Elect. IV).

2° - Glyco et lipoprotéines (Planche n° XXXVII ; p.67-68)

Les 6 fractions sont glycoprotéiques, faiblement de Th_1 à Th_5, fortement pour Th_6 qui, de plus, est lipoprotéique.

B - ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON
(Planches n° XXXIII et XXXIV)

Elle nous permet d'obtenir un plus haut degré de fractionnement des protéines : 12 fractions sont séparables, au lieu de 6 visibles par électrophorèse sur papier :

- 1 fraction faiblement concentrée migre vers la cathode ;

- 11 fractions se déplacent vers l'anode et sont toujours présentes quel que soit le stade considéré : il n'y a que des variations relatives de concentration de ces divers composants. La protéinémie devient maximale au moment du filage et de la prénymphose (Elect. I et II - Planche n° XXXIV).

ELECTROPHORESE BIDIMENSIONNELLE EN GEL D'AMIDON

(Photo et schéma interprétatif)

THAUMETOPOEA PITYOCAMPA : CHENILLE DU DERNIER ÂGE

PLANCHE N° XXXV

Les protéinogrammes d'hémolymphe entière sont difficiles à interpréter. Il faut diluer l'hémolymphe dans un peu de solution tampon afin d'obtenir un bon fractionnement.

Au contraire, l'hémolymphe des chenilles venant de faire la D. M. est trop pauvre en protéines pour être analysée sur gel d'amidon de manière valable.

Remarque : L'électrophorèse sur gel d'amidon à deux dimensions permet de montrer l'hétérogénéité des fractions 5 et 7 (Planche n° XXXV).

Conclusions

La Processionnaire du pin montre, quant au nombre des protéines de son hémolymphe, une grande stabilité : 6 sont décelables par électrophorèse sur papier, 12 sur gel d'amidon.

La dernière mue larvaire est caractérisée par une faible protéinémie et s'accompagne de la disparition de la fraction Th_6. La nymphose ne donne pas lieu à de telles modifications.

VII - CONCLUSIONS

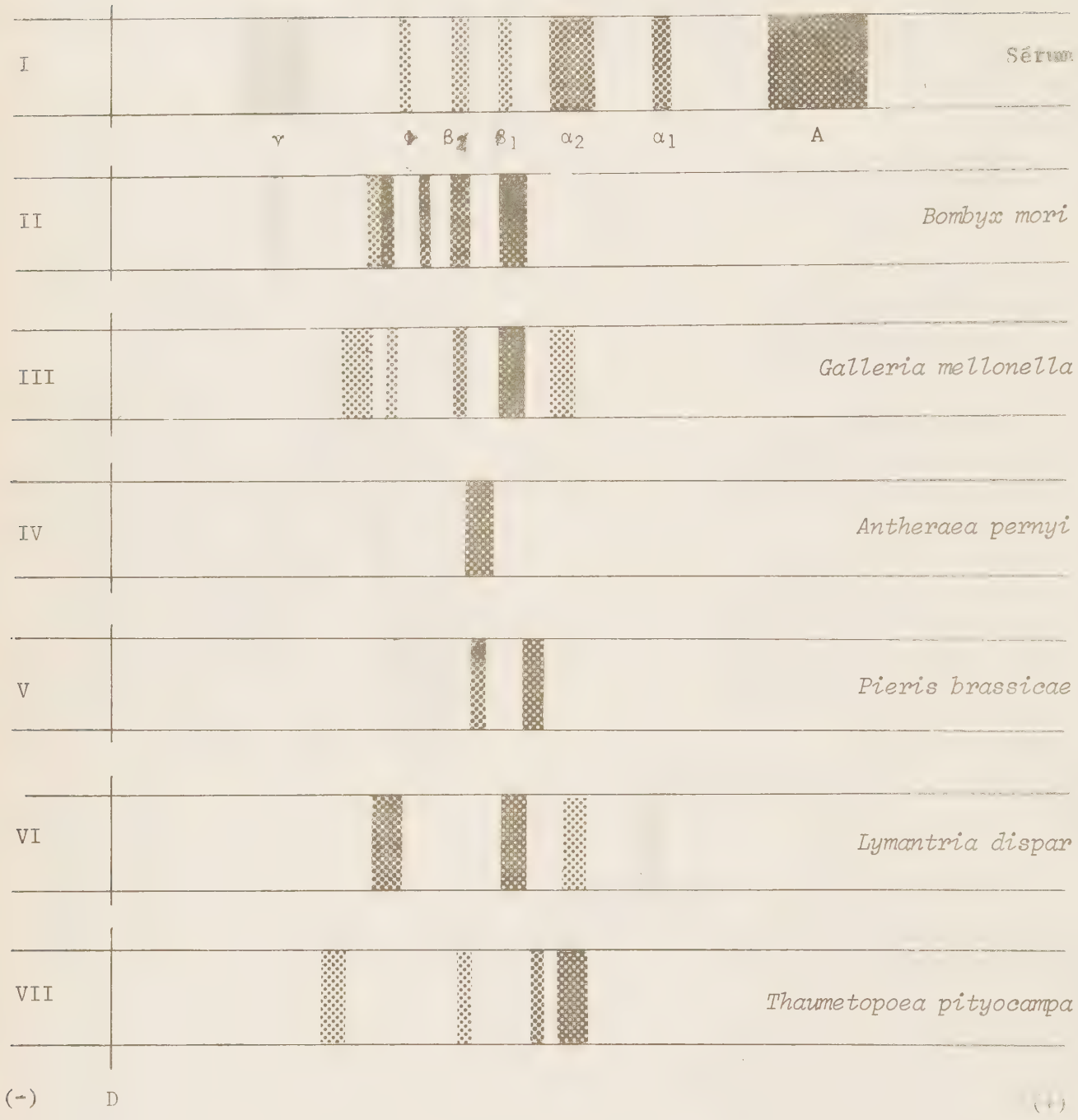
Par électrophorèse sur papier ou sur gel d'amidon, les fractionnements obtenus sont supérieurs à ceux décrits par nos prédécesseurs, grâce à la recherche et au choix préalables d'un tampon favorable dans le premier cas, et dans les deux cas à une cuve d'électrophorèse à évaporation limitée parfaitement au point.

Le gel d'amidon à deux dimensions nous paraît utile pour confirmer les résultats obtenus avec le gel monodimensionnel. Il présente cependant l'inconvénient de ne pas permettre un travail en série.

L'électrophorèse sur acétate de cellulose et la mise au point d'une technique d'immuno-électrophorèse sur ce même support, nous permettent d'obtenir le maximum de renseignements sur les protéines des animaux de petite taille ou pauvres en hémolymphe.

De l'étude des résultats obtenus par ces diverses techniques chez les Lépidoptères, il semble possible de tirer les conclu-

ELECTROPHORESES COMPAREES



Sérum = Sérum humain + fibrinogène
Hémolymphe de chenilles au filage

PLANCHE N° XXXVI

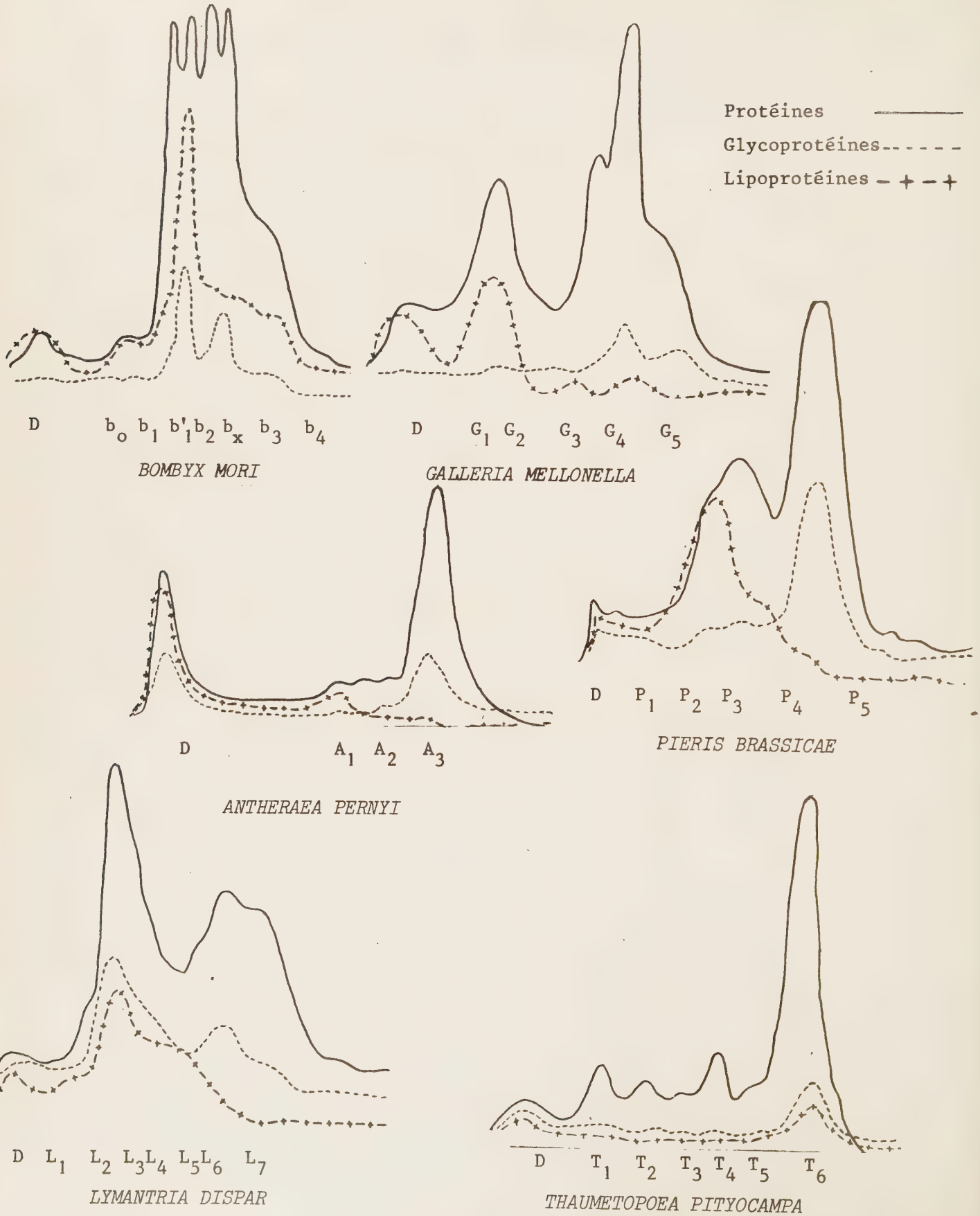
sions générales suivantes :

1° - Les protéines de l'hémolymphe des six Lépidoptères étudiés sont différentes quant à leur point isoélectrique, puisqu'elles se comportent différemment selon le tampon utilisé. Elles sont cependant semblables quant à leur vitesse de déplacement par rapport aux protéines sériques humaines, et quant aux éléments (glucides et lipides) qui y sont associés.

Leur vitesse de déplacement est étudiée par électrophorèse sur papier dans les mêmes conditions (tampon "Tris", ddp = 200 V, I = 9 mA, t = 16 h) que celle des protéines sériques (sérum humain additionné de fibrinogène cristallisé qui migre entre les β_2 et les γ globulines). Ces protéines migrent comme des globulines et jamais comme l'albumine (Planche n° XXXVI). Il en est de même de l'hémolymphe de Drosophila melanogaster (Ch. WUNDERLY et H. GLOOR - 1953), Melolontha melolontha, Neodiprion sertifer (A. KRIEG - 1956), Periplaneta americana, Blatta orientalis, Blatella germanica, Smerinthus cerisyi, Lichnante rathvoni, Pleocoma oregonensis, Pleocoma minor, Oncopeltus fasciatus, Phormia regina (W. P. STEPHEN et A. L. STEINHAUER - 1957 ; W. P. STEPHEN - 1958), Culex pipiens (P. S. CHEN - 1959) et Pediculus humanus (Ch. SERIE et Coll. - 1956).

R. ZELEDON et E. I. MORUA (1963) signalent chez Rhodnius prolixus, Triotoma infestans, Triotoma phyllosoma, Triotoma platensis et Triotoma pallidipennis, l'existence, à côté des 2 ou 3 protéines migrant comme des globulines humaines, d'une protéine faiblement concentrée et migrant plus loin que l'albumine.

Toutefois, les premiers auteurs utilisant l'électrophorèse (A. DRILHON - 1954, K. INAGAMI - 1954, et l'école japonaise, E. W. CLARK et G. H. BALL - 1956), sans doute à la suite des études biochimiques de V. DUCCESCHI (1902), G. H. BISHOP et Coll. (1925), M. FLORKIN et J. GOMEZ (1939), M. FLORKIN et G. DUCHATEAU (1943), comparent les protéines de l'hémolymphe à des globulines et à l'albumine. Il n'y a actuellement à notre connaissance aucun résultat permettant de trancher définitivement ce débat. En effet, l'étude des acides aminés constitutifs des protéines de l'hémolymphe des Insectes n'a été faite que très imparfaitement (S. NAKAJIMA - 1926, R. IROUE et Coll. - 1933, Yu. B. FILIPPOVICH - 1960, S. M.


Protéines
Glycoprotéines
Lipoprotéines
D b$_o$ b$_1$ b'$_1$ b$_2$ b$_x$ b$_3$ b$_4$
BOMBYX MORI
D G$_1$ G$_2$ G$_3$ G$_4$ G$_5$
GALLERIA MELLONELLA
D A$_1$ A$_2$ A$_3$
ANTHERAEA PERNYI
D P$_1$ P$_2$ P$_3$ P$_4$ P$_5$
PIERIS BRASSICAE
D L$_1$ L$_2$ L$_3$L$_4$ L$_5$L$_6$ L$_7$
LYMANTRIA DISPAR
D T$_1$ T$_2$ T$_3$ T$_4$ T$_5$ T$_6$
THAUMETOPOEA PITYOCAMPA

HENRY et T. W. COOK - 1963). Les études récentes de M. I. ALIEVA et Yu. B. FILIPPOVICH (1968), séparant les protéines de l'hémolymphe par électrophorèse sur papier, puis hydrolysant chaque fraction afin d'en connaître la composition en acides aminés, devraient amener à une meilleure connaissance de ces protéines.

Les protéines sont toutes des glycoprotéines. Les courbes d'enregistrement après coloration des protéines ou des glycoprotéines (planche n° XXXVII*) sont d'allure générale semblable.

Les lipoprotéines sont généralement associées aux protéines pigmentaires, migrant peu, comme chez Drosophila melanogaster, Galleria mellonella et Schistocerca gregaria (F. J. BOWEN et B. A. KIRBY - 1953 ; J. M. DENUCE - 1955 ; L. HILL - 1962), ou parfois migrant loin, comme chez Pollistes gallicus (M. D. STAMM et J. ALVAREZ - 1963).

2° - Les protéines subissent, au cours du cycle biologique normal, l'évolution cyclique suivante :

- Avant la D. M., elles sont peu nombreuses et de faible pouvoir migrateur du point de vue électrophorétique.

- Au cours du dernier âge, des fractions nouvelles apparaissent. Elles migrent plus loin et atteignent une concentration maximale au moment du filage.

- Au cours de la nymphose et jusqu'à l'émergence, ces nouvelles fractions diminuent de concentration alors que les premières apparues deviennent dominantes.

Ces variations qualitatives concordent avec les données quantitatives (N protéique) connues : la concentration protéique augmente à partir du milieu du dernier âge, atteint un maximum après le filage, diminue brusquement au moment de la nymphose, change peu durant la première moitié de la vie nymphale et diminue rapidement jusqu'à l'émergence. Ces modifications protéiques (qualitatives et quantitatives) constatées sont le résultat d'un métabolisme protéique particulier dont on a pu suivre l'intensité grâce à des acides aminés marqués par exemple chez Bombyx mori et Antheraea pernyi. L'incorporation des acides aminés marqués (glycine,

* Superposition des courbes d'enregistrement non observables, protéines, glyco et lipoprotéines étant révélées par des colorants différents pour lesquels la spectrophotométrie montre que les maximum

méthionine) est faible à l'avant-dernier âge, puis augmente durant le dernier âge (L. V. VASIL'EVA - 1958, P. FAULKNER et B. NHEEMEWAR-1960).

La Processionnaire du pin semble l'exception à cette régle. Si l'on ne tient pas compte de la disparition momentanée de la fraction L_6 (au moment de la dernière mue), elle présente une grande stabilité du nombre de ses fractions protéiques. L'avant-dernier âge peut être fort long et se présente sous une forme de diapause où la protéinémie reste constamment élevée. Il en est de même au dernier âge puis chez la nymphe. L'allongement de chaque stade se traduit dans ce cas, comme nous l'avons observé au cours des diapauses nymphales de Pieris brassicae et d'Antheraea pernyi, par une grande stabilité des protéines de l'hémolymphe. W. H. TELFER (1954), G. M. CHIPPENDALE et S. T. BECK (1966), H. LAUFER (1960) et S. TAKAHASHI (1964) trouvent la même stabilité chez Hyalophora cecropia, Ostrinia nubilalis et Samia cynthia. Seule, Macrothylacea rubi (A. DRILHON - 1959) présente des modifications (une des six protéines envahit toutes les autres) traduisant la "manifestation d'une pré-métamorphose".

Les protéines de l'hémolymphe reflètent bien, par leur évolution, l'état physiologique de l'animal. Tout arrêt naturel du développement se traduit par l'arrêt de l'évolution des protéines qui se produit toujours à un moment où la protéinémie de l'hémolymphe est élevée. J. CLARET (1968) montre que, dans le cas particulier de Pieris brassicae, les chenilles élevées en photo-période courte, donc conduisant à des nymphes diapausiques, ont un taux protéique maximum deux fois plus grand que celles élevées en photo-période longue.

3° - Enfin, au cours du cycle biologique, une différence sexuelle apparaît :

- Lorsqu'elle se manifeste au moment du filage ou de la prénymphose, ce qui est le cas pour le Ver à soie, la Spongieuse et le Bombyx du chêne par exemple, cette différence est

alors d'ordre quantitatif : certaines fractions sont plus importantes chez les femelles. Chez Hyalophora cecropia, la "protéine femelle" de W. H. TELFER (1954) est, en fait, dix fois plus concentrée chez la femelle que chez le mâle.

- Chez la Piéride du chou, cette différence apparaît peu avant l'émergence et est d'ordre qualitatif : une protéine spéciale F est propre au sexe femelle. C'est le seul Lépidoptère qui, à notre connaissance, possède dans son hémolymphe une telle protéine, alors qu'une analogue a déjà été décrite pour les Insectes à vie adulte longue : Locusta migratoria (S. S. TOBE et B. G. LOUGHTON - 1967) et Leucophaea maderae (F. ENGELMANN et D. PENNEY - 1966).

--o-O-o--

C H A P I T R E III

VARIATIONS DES PROTEINOGRAMMES
AU COURS DU DEVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE MODIFIE EXPERIMENTALEMENT

Après avoir étudié les protéines de l'hémolymphe au cours du cycle biologique normal, nous nous sommes efforcé de suivre les variations de la protéinémie lorsque le cycle biologique du Ver à soie, de la Spongieuse et de la Piéride du chou, est modifié expérimentalement.

On peut perturber le cycle biologique de plusieurs façons :

- Il peut être arrêté à un certain stade :

.. stade larvaire : par mise à jeun des chenilles ou par ligature simple ou double ;

.. stade nymphal : par ligature des chenilles ou écérébration, et en empêchant les chenilles de filer (en bouchant la filière).

- Il peut être accéléré par l'ablation des corps allates chez des chenilles jeunes (après la IIIe mue par exemple).

Les expériences ont été faites suivant les techniques établies par J. J. BOUNHIOL (1938-1943-1945), M. AMANIEU (1955), S. CAVALLIN (1961). Certaines (double ligature et ablation des corps allates) ont été réalisées à notre intention par J. LAHARGUE.

Nous étudierons successivement les effets :

- du jeûne ;
- des ligatures ;
- des modifications du filage ;
- de l'ablation des corps allates, sur la protéinémie de l'hémolymphe.

I - LE JEÛNE

A - BOMBYX MORI

Nous utilisons des Vers de race "Japchino", élevage n° 23, élevés en pièce climatisée à 24°.

Des lots de 30 Vers sont mis à jeûner après 3 jours, 4 jours, 5 jours d'alimentation normale après la dernière mue (D. M.).

L'hémolymphe sera étudiée par électrophorèse sur papier.

1° - Destinée des Vers

a - Vers mis à jeûner le 4e jour après la D. M.

Ces vers ayant reçu une alimentation normale pendant trois jours entiers (c'est-à-dire 12 repas), sont tous morts à l'état de chenilles. La survie maximum, après la mise à jeun, fut de 9 jours.

b - Vers mis à jeûner le 5e jour après la D. M.

Ces vers ayant, après la dernière mue, reçu 14 repas, ont eu des destins divers :

- La plupart sont morts à l'état de chenilles ;
- Quelques-uns donnèrent des nymphes qui moururent rapidement ;
- Quelques nymphes sont devenues papillons.

c - Vers mis à jeûner le 6e jour après la D. M.

Ces vers ayant reçu 20 repas, ont eu une évolution normale.

Conclusion

Il ressort de ces expériences que, pour les Vers à soie

de race "Japchino", élev. n° 23, la période d'alimentation indispensable est de 4 jours ; ces Vers doivent recevoir au moins 16 repas pour pouvoir continuer leur développement.

2° - Etude de l'hémolymphe des jeûneurs

Cette étude nous a permis de confirmer les observations précédemment rapportées.

a - Vers mis à jeûner le 4e jour après la D. M. (Voir Fig. 1 - Planche n° XXXVIII).

L'hémolymphe d'un Ver de 4 jours comprend (Elect.T_1) 4 fractions protéiques : b_0, b_1, b_2 et b_3. En prélevant de l'hémolymphe le 6e jour (Elect.J_1), le 8e jour (Elect.J_2) et le 11e jour (Elect.J_3) après la D. M. à ces animaux mis à jeûner le 4e jour, nous constatons que les protéinogrammes obtenus sont à peu près identiques au protéinogramme-témoin. On note cependant une diminution du taux protéique, entraînant la non visibilité de la fraction lente à migrer b_0. La fraction b_3 semble être celle qui est la plus utilisée par l'animal au cours de sa survie.

Conclusion

Les Vers mis à jeûner avant la période d'alimentation indispensable sont bloqués à un certain stade physiologique qui sera maintenu pendant toute la durée de la survie. L'étude par électrophorèse permet de vérifier ce blocage : l'hémolymphe reste qualitativement identique durant toute la survie, mais diminue quantitativement. Pour survivre, un Ver en inanition semble donc utiliser les protéines de son hémolymphe (fraction $b_0 + b_3$).

b - Vers mis à jeûner le 5e jour après la D. M. (Voir Fig. 2 de la planche n° XXXVIII).

L'hémolymphe d'un témoin (Elect.T_2 : cinq jours après la D. M.) montre les fractions protéiques : b_0, b_1, b_1', b_2, b_x et b_3 ; en avant de b_3, fraction très importante, il y a une traînée non identifiable à la fraction b_4.

Un certain nombre de jeûneurs de ce lot sont morts à l'état de chenilles. La comparaison des électrophorégrammes J_4 (7 jours après la D. M.) et J_5 (13 jours après D. M.) montre une diminution du taux protéique de l'hémolymphe, alors que,

PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE DES JEUNEURS CHEZ BOMBYX MORI

(Electrophorèse sur papier)

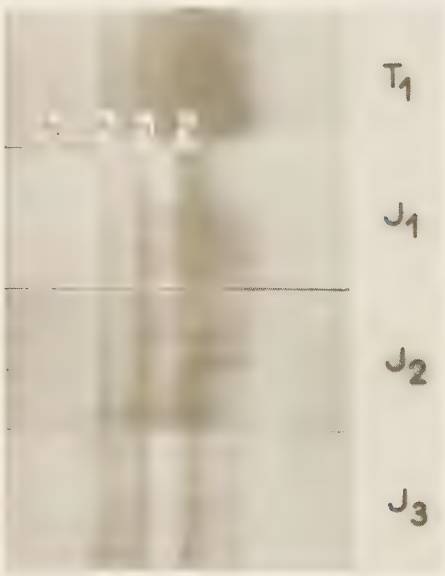


Fig. 1 : Ver mis à jeûner le 4e jour après la D. M.

T_1 : Ver normal 4 jours après la D. M. ;

J_1 : Ver 6 jours après la D. M. ;

J_2 : Ver 8 jours après la D. M. ;

J_3 : Ver 11 jours après la D. M.

Fig. 2 : Ver mis à jeûner le 5e jour après la D. M.

T_2 : Ver normal 5 jours après la D. M. ;

J_4 : Ver 7 jours après la D. M. ;

J_5 : Ver 13 jours après la D. M. ;

J_6 : Ver au filage ;

J_7 : Nymphe femelle de 1 jour ;

T_3 : Nymphe femelle normale de 1 jour.

PLANCHE N° XXXVIII

qualitativement, il n'y a pas de variation par rapport au témoin. Dans ce cas, le blocage se fait à un stade physiologique plus avancé que dans le cas précédent : Ver avant le filage.

D'autres Vers vont filer (Elect. J_6 : cocon "ombre") et donner des nymphes dont le sang (Elect. J_7 : nymphe ♀ de un jour) reste identique à celui du fileur. Ces nymphes ne donneront pas de papillons : il y a blocage au stade nymphal. La comparaison de l'hémolymphe normale (Elect. T_3 : nymphe ♀ de un jour) permet d'observer des différences qualitatives : persistance de b_3 chez la nymphe bloquée, et quantitatives : l'ensemble b_1, b_1', b_2 et b_x est plus concentré chez la nymphe témoin. Cette nymphe a bien une hémolymphe de chenille au filage.

Pour les Vers ayant un développement complet, l'hémolymphe ne présente pas de différence par rapport aux témoins.

c - Vers mis à jeûner le 6e jour après la D. M.

Ces animaux évoluent normalement et leur hémolymphe est comparable à celle des témoins.

Conclusion

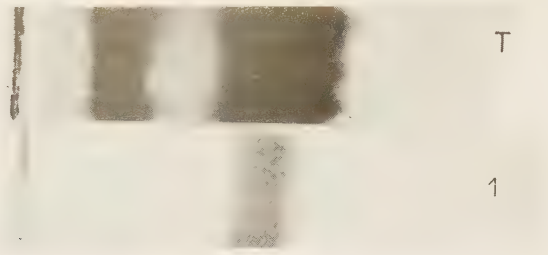
Par électrophorèse, nous vérifions que l'hémolymphe des Vers mis à jeûner avant la période d'alimentation indispensable n'évolue pas : les protéines sont qualitativement les mêmes pendant la survie, mais leur concentration diminue en fonction du temps.

Le jeûne permet parfois d'obtenir des nymphes déficientes, qui ne sont pas des imagos potentielles, pour lesquelles l'état protéique de l'hémolymphe est remarquable, car de type parfaitement chenille au filage.

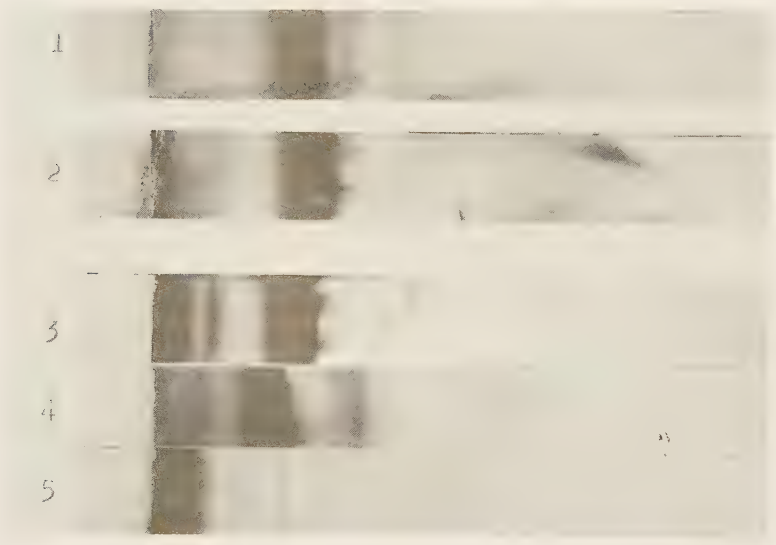
B - LYMANTRIA DISPAR

1° Destinée des jeûneurs

Des femelles sont isolées au moment de la Ve mue larvaire, et nourries par nous 2 fois par jour (matin et soir). Les



Electrophorèse sur papier :
- T : Chenille témoin au filage ;
- 1 : Chenille 12 jours après la D. M., à jeûn depuis 10 jours.



Electrophorèse sur gel d'amidon :
1 - Chenille 9 jours après la D. M., à jeûn depuis 7 jours ;
2 - Chenille 11 jours après la D. M., à jeûn depuis 8 jours ;
3 - Chenille 10 jours après la D. M., à jeûn depuis 6 jours ;
4 - Chenille 12 jours après la D. M., à jeûn depuis 8 jours ;
5 - Papillon issu de jeûneur (mis à jeûn [illegible] après la D. M.).

PLANCHE N° XXXIX

mises à jeun se font :

- 2 jours après la Ve mue : animal ayant reçu 4 repas ;
- 3 jours . . . . . 6 repas ;
- 4 jours . . . . . 8 repas ;
- 5 jours . . . . . 10 repas ;
- 6 jours . . . . . 12 repas.

On constate que les Vers n'ayant reçu que 4 repas meurent à l'état de chenilles ; la survie est de 10 à 15 jours. Trois jours d'alimentation (6 repas) sont indispensables pour que les chenilles se nymphosent et donnent des papillons.

Conclusion : Alimentation indispensable = 3 jours (6 repas).

2° - Etude de l'hémolymphe des jeûneurs :

a - Electrophorèse sur papier :
(Planche n° XXXIX)

L'électrophorèse sur papier de l'hémolymphe d'une chenille de 12 jours, à jeûn depuis 10 jours, montre que seule la fraction L_6 est importante, les autres composés visibles L_1 et L_5 étant très peu concentrés. Il y a donc blocage au stade chenille jeune, sans évolution vers la nymphose - caractérisée par la synthèse de L_2 (Elect. 1 et T).

b - Electrophorèse en gel d'amidon :
(Planche n° XXXIX)

L'électrophorèse en gel d'amidon montre les mêmes phénomènes que l'électrophorèse sur papier, à savoir :

- Chez les animaux en survie à l'état de chenille, car mis à jeûner le 2e ou le 3e jour après la Ve mue, l'hémolymphe reste bloquée à ce stade caractérisé par une fraction protéique n° 3 importante et la non synthèse des fractions 1 et 2 (Elect. 1 et 2).

Remarque :

Les résultats obtenus par électrophorèse sur papier et sur gel d'amidon laissent à penser que la fraction L_6 est identique à la fraction n° 3.

- Si, au contraire, le jeûne n'entraîne pas la mort à l'état de chenille, l'hémolymphe montre alors la présence des fractions 1 + 2, et l'évolution est normale jusqu'au stade imaginal. Les papillons ont une hémolymphe riche en composé lent à migrer (n° 2) et pauvre en autres éléments (en particulier n° 3). (Elect. 3 à 5).

Conclusion

Les protéines de l'hémolymphe des chenilles ♀ mises à jeûner avant la fin de la période d'alimentation indispensable, se révèlent de type "chenilles jeunes". Si le jeûne n'entraîne pas la mort à l'état de chenilles, l'évolution des protéines de l'hémolymphe est normale jusqu'au stade imaginal.

C - PIERIS BRASSICAE

1° - Destinée des jeûneurs :

Des chenilles sont séparées alors qu'elles viennent de faire la IVe mue (elles ont encore la tête claire). Comme le cycle est très accéléré, nous isolons les chenilles :

- 1 j. après la D. M. : le matin - soit après 1 repas ;
  le soir - soit après 2 repas ;
- 2 j. après la D. M. : le matin - soit après 3 repas ;
  le soir - soit après 4 repas ;
- 3 j. après la D. M. : le matin - soit après 5 repas ;
  le soir - soit après 6 repas.

Conclusion

Quatre repas se révèlent indispensables pour que les chenilles se nymphosent et donnent des papillons. La période d'alimentation indispensable est donc très courte : 2 jours.

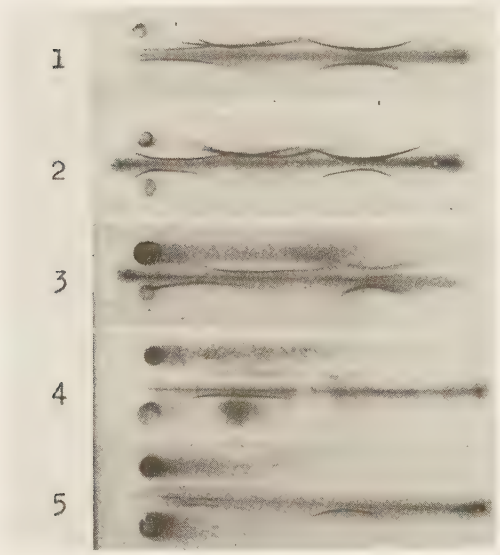
2° - L'hémolymphe des jeûneurs

Elle a été étudiée par électrophorèse sur acétate de cellulose et immuno-électrophorèse.

- Les Vers mis à jeûner après 1 seul repas

PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE DES JEUNEURS CHEZ *PIERIS BRASSICAE*

(Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)



Sérum anti-chenille :

Chenilles mises à jeûner après 1 repas :

1 - Chenille mâle 2 jours après la IVe mue ;

2 - Chenille femelle 2 jours après la IVe mue ;

3 - Chenille femelle 3 jours après la IVe mue.

Chenilles mises à jeûner après 5 repas :

4 - Papillon femelle du jour.

Sérum anti-oeufs :

Chenilles mises à jeûner après 5 repas :

5 - Papillon femelle du jour.

PLANCHE N° XL

(après la D. M.) ont une survie de 4 jours environ et restent de petite taille. L'hémolymphe est typique quant à ses protéines : faiblesse de concentration (visible par électrophorèse sur acétate de cellulose) et présence des arcs 1 et 4, seulement chez des animaux de 3 à 4 jours, alors que chez les témoins, les arcs 2 et 3 sont également présents (visibles par immuno-électrophorèse en utilisant le sérum anti-chenille) (Planche n° XL : Elect. 1 à 3).

- Les résultats sont identiques pour les Vers mis à jeûner après avoir reçu 2 repas, et dont la survie est de 5 - 6 jours mais dont la taille est plus grande.

- Au contraire, ceux ayant reçu trois repas sont de grande taille, ont une survie plus longue (7 - 8 jours) et présentent une hémolymphe relativement riche en protéines et dans laquelle on décèle les arcs 1, 2, 3 et 4. Ils n'arrivent cependant pas à donner des nymphes.

- Lorsque le jeûne n'empêche ni la nymphose ni l'émergence, l'évolution des protéines est normale et la protéine F apparaît, chez les papillons femelles seulement (Elect. 4 et 5 - Planche n° XL).

Conclusion

Chez ce Lépidoptère, nous observons donc un blocage :

- au stade "chenille jeune", caractérisé par la présence dans l'hémolymphe des arcs 1 et 4, si la mise à jeun est faite après le premier ou le deuxième repas ;

- Au stade chenille plus âgée, caractérisé par la présence des 4 arcs (1 à 4), si la mise à jeun est faite après le troisième repas.

Une mise à jeun après le 4e repas n'empêche pas l'achèvement du cycle biologique, ni l'apparition de la protéine femelle F chez les papillons.

CONCLUSIONS :

Pour les trois Lépidoptères étudiés, la mise à jeun avant la fin de la période d'alimentation indispensable entraîne

la mort, à l'état de chenille. Pendant la survie, les protéines de l'hémolymphe restent qualitativement identiques à celles de la chenille au moment de la mise à jeun, mais quantitativement déficientes.

L'inégale diminution de concentration de certaines fractions en fonction du temps, laisse penser que les protéines sont utilisées au cours de la survie. Cet emploi des protéines de l'hémolymphe (ou d'autres tissus) chez Bombyx mori (S. BITO - 1927), Deilephila euphorbiae (J. HELLER et A. MOKLOWSKA - 1930), Sialis butaria (L. C. BEADLE et J. SHAW - 1950) Galleria mellonella (Z. M. ZIELINSKA - 1952 - 1957), Chortophaga viridifasciata et Samia walkeri (J. P. TASSONI - 1957), se traduit par la baisse du taux d'azote protéique alors que le taux d'azote non protéique se maintient. On pense que les protéines sont décomposées en acides aminés et qu'ainsi "la pression osmotique est maintenue" (J. B. BUCK - 1953). Ce ne serait pas le cas pour Popillia japonica où le taux d'azote reste constant (D. LUDWIG - 1953), ni pour Chortoicetes terminifera (T. DJAJAKUSUMAH et P. W. MILES 1966) où ce taux augmente.

Par les techniques électrophorétiques, on constate divers effets du jeûne sur les protéines de l'hémolymphe : soit une diminution et même la disparition de certaines fractions protéiques chez la larve de dernier âge du Lépidoptère Malacosoma americanum (J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962), résultat comparable à ceux obtenus par nous chez les Lépidoptères étudiés, soit une concentration des protéines de l'hémolymphe chez le Pou Pediculus humanus à jeun depuis 24 h (Ch. SERIE et Coll. - 1956), ainsi que chez les larves de l'hyménoptère Neodiprion lecontei (J. R. WHITTAKER et A. S. WEST - 1962) pour lesquelles la concentration est d'autant plus importante que le jeûne est plus long.

La diminution générale de concentration de toutes les fractions protéiques de l'hémolymphe des Lépidoptères étudiés par nous peut, à la lumière des travaux de L. BAUD et Coll. - 1965, être interprétée comme la conséquence de l'augmentation de

la teneur en eau (exprimée en % du poids frais) au cours du jeûne.

Il sera peut-être possible d'obtenir d'autres renseignements sur le jeûne en étudiant ses effets sur le tissu adipeux comme cela a été réalisé pour Blaberus (P. A. WALKER - 1965) et Rhodnius (V. B. WIGGLESWORTH - 1967).

Nous pouvons conclure en disant que, si la mise à jeûn des larves de Lépidoptères au dernier âge conduit à l'arrêt du développement biologique, elle entraîne également un blocage des synthèses protéiques se traduisant par la non apparition de nouvelles fractions dans l'hémolymphe.

II - LIGATURES ET ECEREBRATION

A - BOMBYX MORI

1° - Ligature entre la tête et le thorax

La ligature entre la tête et le thorax des chenilles de Vers à soie au dernier âge, permet d'obtenir des nymphes acéphales. La ligature peut être faite :

- Précocement, c'est-à-dire avant le filage, vers le 7e jour après la D. M. pour des Vers de race "Japchino". Dans ce cas, nous savons que les nymphes ne donneront pas de papillons : ce sont des pupes définitives ;
- Tardivement, c'est-à-dire après le filage, lorsque le Ver à filé un cocon "à ombre". Dans ce cas, les nymphes donneront des papillons, mais avec un important retard par rapport aux témoins : ce sont des nymphes retardées ou durables.

Rappel de l'évolution de l'hémolymphe de la nymphe au papillon

Chez les Vers à soie de race "Japchino" (Elev. n° 23, 27) la vie nymphale dure environ dix jours.

BOMBYX MORI DE LA NYMPHE AU PAPILLON

(Electrophorèse sur papier)

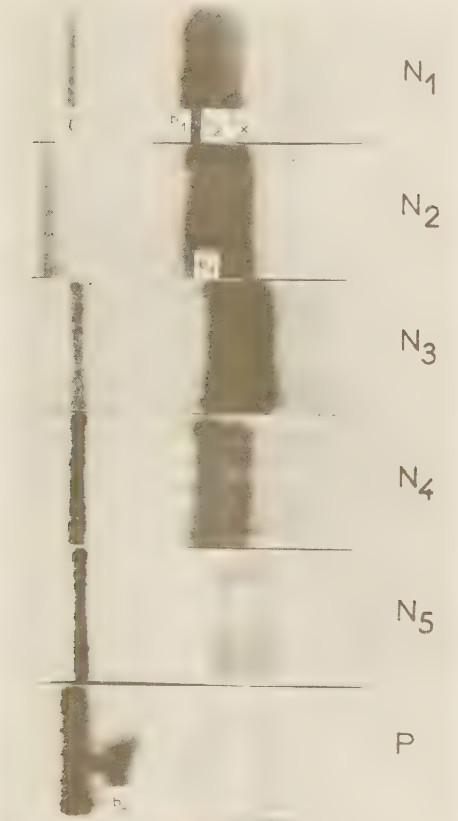


Fig. 1 : Mâle

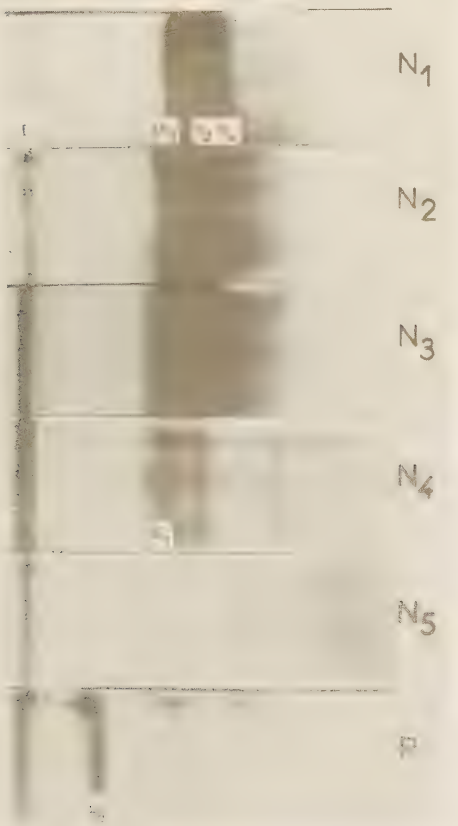


Fig. 2 : Femelle

N_1 : Nymphe très jeune ;

N_2 : Nymphe de 3 jours ;

N_3 : Nymphe de 4 jours ;

N_4 : Nymphe de 6 jours ;

N_5 : Nymphe de 8 jours ;

P : Papillon à l'émergence.

NYMPHES ACEPHALES DEFINITIVES CHEZ *BOMBYX MORI*

(Electrophorèse sur papier)

Fig. 1 : Mâle

T : Prénymphe normale ;

Ac_1 : Nymphe de 1 jour ;

Ac_2 : Nymphe de 3 jours ;

Ac_3 : Nymphe de 9 jours ;

Ac_4 : Nymphe de 13 jours ;

Ac_5 : Nymphe de 21 jours.

Fig. 2 : Femelle

T : Prénymphe normale ;

Ac_6 : Nymphe de 3 jours ;

Ac_7 : Nymphe de 5 jours (hémolymphe diluée) ;

Ac_8 : Nymphe de 8 jours ;

Ac_9 : Nymphe de 16 jours ;

Ac_{10} : Nymphe de 18 jours.

PLANCHE N° XLII

L'hémolymphe d'une nymphe d'une heure est caractérisée par la grande richesse de l'ensemble des protéines b_1, b'_1, b_2 et b_x. En avant de cet ensemble, b_o est peu importante et, après lui, les fractions b_3 et b_4 sont difficilement individualisables et donnent l'aspect d'une traînée. Une différence sexuelle réside dans la disparition de b_3, plus rapide chez les nymphes mâles que chez les femelles. La fraction b_4 semble persister plus longuement que b_3 pendant la vie nymphale.

C'est à partir du 5e jour après la nymphose, que l'on constate une diminution importante de la protéinémie de l'ensemble b_1, b'_1, b_2 et b_x.

Chez les papillons, mâles ou femelles, une fraction importante et lente à migrer, b_a, sera suivie de 5 constituants.

Les électrophorégrammes : N_1, N_2, N_3, N_4, N_5 et P, de la planche n° XLI, montrent cette évolution.

a - Etude de l'hémolymphe des nymphes acéphales définitives

- Nymphes mâles

(Voir planche n° XLII - Fig. 1)

Nous prendrons comme hémolymphe témoin, celle d'une prénymphe comprenant les 7 fractions protéiques suivantes : b_o, b_1, b'_1, b_2, b_x, b_3 et b_4 (Elect. T.).

L'observation des électrophorégrammes de nymphes de 1 jour (Elect.Ac_1), de 3 jours (Elect.Ac_2), de 9 jours (Elect.Ac_3), de 13 jours (Elect.Ac_4) et de 21 jours (Elect. Ac_5), révèle la persistance de ces diverses fractions protéiques et leur diminution de concentration en fonction du temps.

- Nymphes femelles

(Voir planche n° XLII - Fig. 2)

L'hémolymphe des nymphes de 3 jours (Elect.Ac_6), de 5 jours (Elect.Ac_7 : hémolymphe diluée), de 8 jours (Elect.Ac_8), de 16 jours (Elect.Ac_9) et de 18 jours (Elect.Ac_{10}), comprend les mêmes protéines que l'hémolymphe d'une prénymphe (Elect.T). Dans ce cas, la persistance des fractions

NYMPHES ACEPHALES PROLONGEES CHEZ *BOMBYX MORI*

(Electrophorèse sur papier)

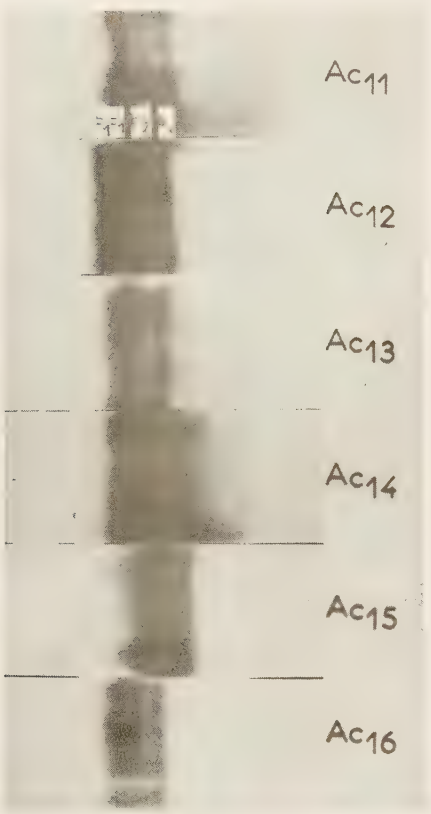


Fig. 1 : Mâle

Ac_{11} : Nymphe de 2 jours ;

Ac_{12} : Nymphe de 4 jours ;

Ac_{13} : Nymphe de 8 jours ;

Ac_{14} : Nymphe de 14 jours ;

Ac_{15} : Nymphe de 30 jours (hémolymphe diluée) ;

Ac_{16} : Nymphe de 43 jours.

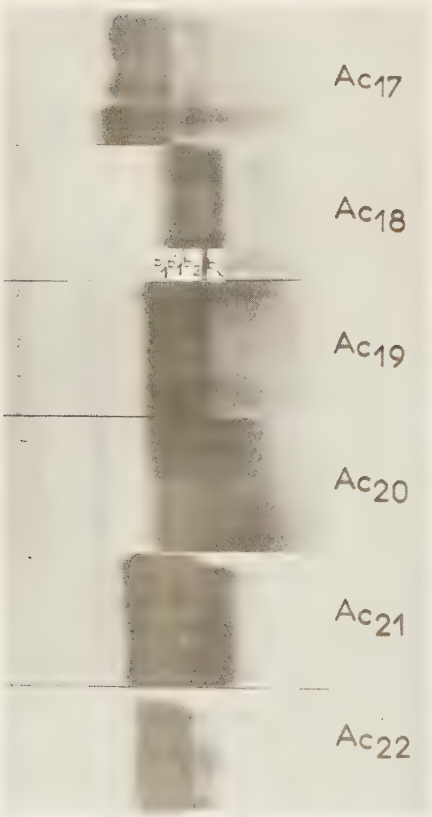


Fig. 2 : Femelle

Ac_{17} : Nymphe de 1 heure ;

Ac_{18} : Nymphe de 3 jours ;

Ac_{19} : Nymphe de 5 jours ;

Ac_{20} : Nymphe de 10 jours ;

Ac_{21} : Nymphe de 30 jours ;

Ac_{22} : Nymphe de 43 jours.

PLANCHE N° XLIII

b_3 et b_4 est encore plus nette que chez les mâles.

Dans les deux cas, mâles ou femelles, b_0 est toujours très importante.

Conclusion

Les nymphes acéphales, obtenues par ligature des Vers avant le filage, maintiennent un état physiologique voisin de celui d'une chenille en prénymphose.

b - Etude de l'hémolymphe des nymphes acéphales prolongées

- Nymphes mâles

(Voir planche n° XLIII - Fig. 1)

Les électrophorégrammes de nymphes de 2 jours (Elect.Ac_{11}), de 4 jours (Elect.Ac_{12}), de 8 jours (Elect.Ac_{13}), de 14 jours (Elect.Ac_{14}), de 30 jours (Elect.Ac_{15} : hémolymphe diluée), de 43 jours (Elect.Ac_{16} : hémolymphe diluée) montrent l'importante concentration de l'ensemble : b_1, b'_1, b_2 et b_x, caractéristique de l'état nymphal.

- Nymphes femelles

(Voir planche n° XLIII - Fig. 2)

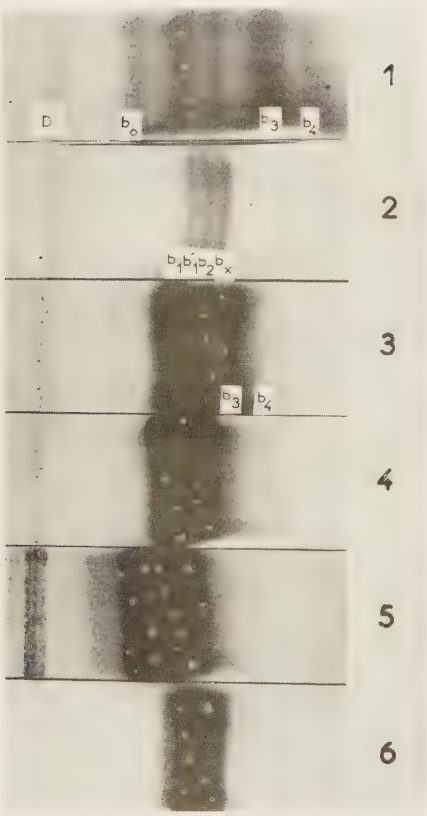
Les électrophorégrammes de nymphes de 1 heure (Elect.Ac_{17}), de 3 jours (Elect.Ac_{18}), de 5 jours (Elect.Ac_{19}), de 10 jours (Elect.Ac_{20}), de 30 jours (Elect.Ac_{21}) et de 43 jours (Elect.Ac_{22}), permettent de confirmer le maintien d'un taux protéique élevé. Les fractions b_3 et b_4 persistent plus longtemps que chez les nymphes témoins, par suite de l'allongement du stade.

Conclusion

Les nymphes acéphales obtenues par ligature après le filage, ont leur hémolymphe tout à fait comparable à celle des

EXPERIENCES DE LIGATURE ET D'ECEREBRATION CHEZ *BOMBYX MORI*

(Electrophorèse sur papier)



Portion chenille :

1 - Après ligature simple Th_3/Abd_1 ;

2 - Après double ligature.

Ecérébration de la chenille :

- Avant le filage :

3 - Nymphe de 15 jours ;

- Après le filage :

4 - Nymphe mâle de 15 jours ;

5 - Nymphe femelle de 27 jours ;

Ecérébration de la nymphe :

6 - Hémolymphe diluée.

PLANCHE N° XLIV

témoins, si l'on tient compte que l'acéphalisation entraîne l'allongement du stade nymphal.

2° - Ligature entre le thorax et l'abdomen

La ligature est faite juste après la dernière défécation (d.d.) La portion antérieure devient rapidement brune (une nymphe s'est formée dessous). La partie postérieure reste chenille et son hémolymphe, à taux protéique élevé, est de type larvaire prénymphal (Elect. 1 de la planche n° XLIV).

3° - Expérience de ligatures couplées

J. J. BOUNHIOL, en 1943 et 1945, montre que, par deux ligatures, la première entre Th_2 et Th_3, la seconde entre Abd_6 et Abd_7, faites à un moment du filage bien précis, on obtient la nymphose des portions antérieure et postérieure, alors que la région médiane demeure chenille.

J. LAHARGUE, ayant repris ces expériences, a eu l'amabilité de nous confier quelques animaux.

Il était intéressant d'étudier par électrophorèse sur papier, les protéines de ces parties intermédiaires non nymphosées. Elles se sont révélées de type nymphe (Elect.2 de la planche XLIV).

Conclusion

Il nous paraît important de comparer les résultats obtenus par ligature simple (entre Th_3/ Abd_1) et par couple de ligatures, ces deux expériences conduisant à l'obtention d'un fragment postérieur ou intermédiaire, semblant chenille.

Dans le premier cas, l'hémolymphe est typiquement chenille quant à ses protéines, alors que, dans le second, elle est de type nymphal.

4° - Expériences d'écérébration

a - De la chenille avant le filage

L'ablation du cerveau, chez un Ver à soie

avant le début du filage, n'empêche pas la mue nymphale, mais la mue imaginale. Les nymphes ont une survie d'environ 15 jours.

A la fin de cette survie, l'hémolymphe est identique à celle d'une prénymphe, comme le montre l'électrophorégramme 3 de la planche XLIV .

b - De la chenille après le filage

L'ablation du cerveau chez un Ver à soie ayant filé une quantité de soie suffisante, n'empêche ni la mue nymphale, ni la mue imaginale. Le stade nymphal est cependant très allongé.

L'observation des électrophorégrammes de la planche XLIV de nymphe mâle de 15 jours (Elect.4) et de nymphe femelle de 27 jours (Elect.5), révèle la nature typiquement nymphale des protéines de l'hémolymphe.

Conclusions :

L'acéphalisation ou l'écérébration d'une chenille de Ver à soie venant de faire sa dernière défécation, empêchera la réalisation de la mue imaginale. L'électrophorèse des protéines de l'hémolymphe de ces nymphes définitives, se montre identique à celle d'une prénymphe témoin.

L'acéphalisation ou l'écérébration d'une chenille de Ver à soie ayant filé une quantité suffisante de soie, n'empêche ni la réalisation de la mue nymphale, ni celle de la mue imaginale. Les nymphes prolongées obtenues ont, dans les deux cas, une hémolymphe typique de nymphe.

Acéphalisation et écérébration ont le même résultat physiologique. L'électrophorèse apporte une nouvelle preuve à ce phénomène. Les facteurs cérébraux sont donc prédominants ou initialement déterminants et commandent les autres.

c - De la très jeune nymphe

L'ablation du cerveau chez la très jeune

nymphe (de 1 à 5 heures) n'entraîne pas de perturbation considérable ni de retard, dans la réalisation de la mue imaginale (J. LAHARGUE, communication personnelle).

Le sang ne présente pas de différence par rapport à celui du témoin (Elect.6 de la planche XLIV : hémolymphe diluée).

Ces résultats sont difficilement comparables à ceux obtenus par les auteurs japonais (K. AIZAWA et Collaborateurs (1960). Pour eux les pupes durables (qu'ils obtiennent par écérébration de la très jeune nymphe) maintiennent pendant les trois premiers mois les caractères physiologiques d'une pupe jeune, puis (vers 100 à 150 jours) reprennent l'état larvaire : les diagrammes électrophorétiques ressemblent à ceux des larves avant la montée.

Conclusions

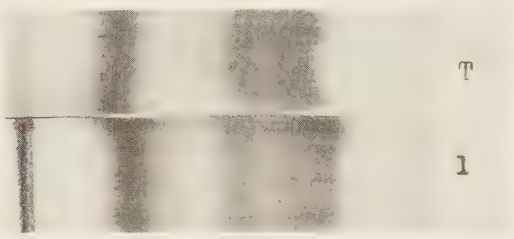
Chez le Ver à soie, les opérations telles que ligatures tête/thorax ou écérébration, pratiquées sur des chenilles ayant filé une quantité suffisante de soie, de même que l'écérébration d'une très jeune nymphe, n'empêchent pas la réalisation de la mue imaginale. L'hémolymphe de ces nymphes potentiellement imagos, est comparable à celle des nymphes normales.

Au contraire, le sang d'animaux ayant subi des interventions les empêchant de se métamorphoser, présente les anomalies suivantes :

- Par ligature tête/thorax ou par écérébration de chenilles avant la d. d., on obtient des nymphes qui sont incapables de devenir papillons : le sang de ces nymphes a les propriétés de l'hémolymphe larvaire de prénymphes ;

- Par ligature Th_3/ Abd_1 aussitôt après la d.d., la partie postérieure reste chenille : son hémolymphe est de type chenille ;

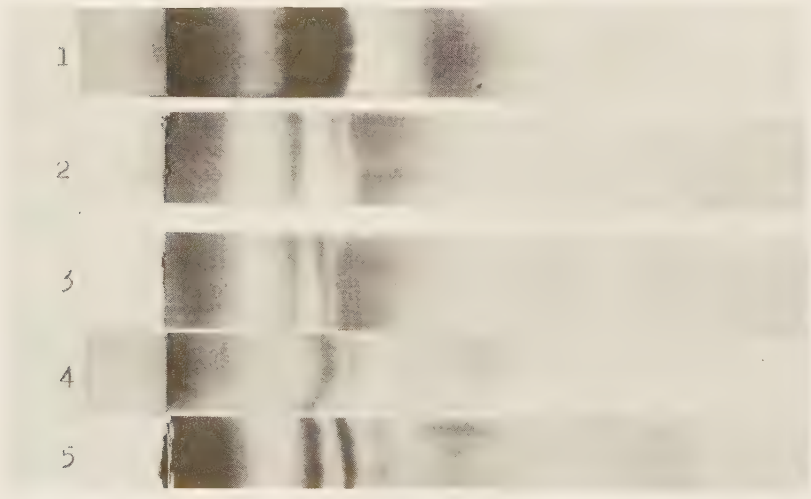
- Par un couple de ligatures convenablement posées et espacées, on obtient des N-O-N, dont la portion intermédiaire centrale reste chenille alors que son hémolymphe est de type nymphal quant à son aspect électrophorétique.



Electrophorèse sur papier :

T - Nymphe femelle témoin du jour ;

1 - Chenille en survie après ligature tête/thorax.



Electrophorèse sur gel d'amidon :

1 - Chenille en survie depuis 7 jours après ligature tête/thorax ;

2 - Nymphe femelle de 3 jours acéphalisée précocement ;

3 - Nymphe femelle de 4 jours acéphalisée tardivement ;

4 - Nymphe femelle de 11 jours acéphalisée tardivement ;

5 - Papillon femelle acéphale.

B - LYMANTRIA DISPAR

Ligature tête/thorax :

Nous utilisons des chenilles femelles, isolées après la Ve mue.

1° - Destinée de ces Vers

- Si la ligature est faite en période d'alimentation facultative (soit 8 jours après la Ve mue), la nymphose est difficile et la mue imaginale impossible. Il y a souvent une longue survie à l'état de chenille.

- Si la ligature est faite en fin de filage (10 j. après la Ve mue) la nymphose se fait bien ; l'imago se forme mais son émergence est difficile, souvent impossible.

Conclusion

La ligature tête/thorax rend difficile la nymphose et impossible la mue imaginale si elle est faite avant la période du filage ; après cette période, elle ne modifie pas le cycle biologique de l'animal.

2° - L'hémolymphe des acéphalisés
(Planche n° XLV)

- Les nymphes acéphales définitives ont une hémolymphe de type nymphal (en électrophorèse sur papier ou gel d'amidon), de même d'ailleurs que les chenilles ligaturées tête/thorax qui n'ont pas réussi à se nymphoser (Elect. 1).

- Les nymphes acéphales, potentiellement imagos, ont, en gel d'amidon, une hémolymphe typique de nymphe et évoluent de manière particulière jusqu'à l'émergence. L'imago doit être dépouillée à la main et son hémolymphe est riche en constituants 1 + 2 et 3 + 4, ce qui est caractéristique (Elect. 1 à 5).

En effet, en collaboration avec R. MOREAU, nous obtenons par bucco-opturation de nymphes de Bombyx mori, des

papillons dont l'hémolymphe présente par rapport à celle des papillons témoins, une augmentation de certaines fractions protéiques.

Conclusions

Chez ce Lépidoptère, les nymphes acéphales définitives que l'on obtient par ligature T/T_h avant le filage ont une hémolymphe caractéristique de nymphe. Lorsque la nymphose ne peut se réaliser, l'hémolymphe est cependant de type nymphal : on obtient donc des chenilles à sang de nymphe.

C - PIERIS BRASSICAE

Nous avons réalisé des ligatures à deux niveaux différents : entre la tête et le thorax, et le pro et le mésothorax (T_{h_1}/Th_2).

1° - Ligature tête/thorax

a - Destinée des acéphalisés

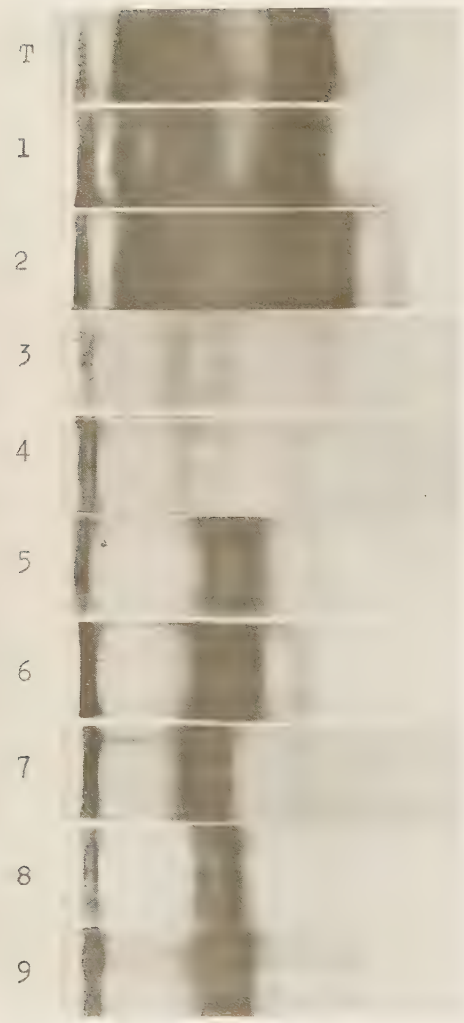
La ligature tête/thorax, réalisée quelques jours après la IVe mue, c'est-à-dire après la fin de la période d'alimentation indispensable, et avant le filage, n'empêche pas la réalisation de la mue nymphale. Les nymphes obtenues sont souvent mal dépouillées et ne donneront jamais de papillons.

Il n'en est pas de même si l'on effectue la ligature après le filage, au stade prénymphal. En effet, à partir de ce moment, les cérébroïdes ne sont absolument pas, comme l'indique J. CLARET (1966), indispensables à l'achèvement du cycle biologique normal, dans le cas de chenilles élevées en photopériode longue. Pour les animaux soumis à une photopériode courte, la 2e activité des ganglions cérébroïdes, celle qui va permettre le déclenchement de la mue imaginale (la première permettant la mue nymphale) est trop faible et les nymphes entrent en diapause.

b - L'hémolymphe des acéphalisés :

- précoces :

(Electrophorèse sur acétate de cellulose)



Expériences de ligature :

T - Chenille témoin 4 jours après la IVe mue ;

1 - Chenille ligaturée Th_1/Th_2 depuis 7 jours ;

2 - Chenille ligaturée Th_1/Th_2 depuis 11 jours ;

Broyat de tissu adipeux :

3 - Chenille ligaturée Th_1/Th_2 depuis 7 jours ;

4 - Chenille ligaturée Th_1/Th_2 depuis 11 jours ;

5 - Prénymphe mâle témoin ;

6 - Prénymphe femelle témoin ;

7 - Nymphe mâle du jour témoin ;

8 - Nymphe mâle âgée témoin ;

9 - Nymphe femelle âgée témoin.

Les nymphes acéphales définitives, ont une hémolymphe jaune caractéristique du stade nymphe jeune, et pour laquelle, l'immuno-électrophorèse permet de déceler les arcs 1,2,3 et 4 (avec l'immunsérum anti-chenille).

- tardifs :

L'évolution des protéines est semblable à celle des nymphes témoins. Les arcs 1,2,3 et 4 sont d'abord présents, puis les arcs 2 et 3 disparaissent en fin de nymphose. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir, par cette technique, de papillons acéphales.

2° - Ligature Th_1 / Th_2 :

a - Destinée des ligaturés

Des chenilles de cinq jours, ligaturées entre le pro et le mésothorax, ne se nymphosent pas, mais restent à l'état de chenille pendant une quinzaine de jours.

b - L'hémolymphe des chenilles en survie

Abondante, normalement jaune ou jaune-vert, elle devient franchement verte en fin de survie.

Les protéines de l'hémolymphe ont été étudiées par électrophorèse sur papier et acétate de cellulose. Ces deux techniques montrent tout au long de la survie, une protéinémie de type chenille âgée, qui se caractérise (si l'on considère les résultats obtenus par électrophorèse sur acétate de cellulose) par la présence de 9 fractions protéiques parmi lesquelles les composés 2 et 7 dominent (Elect. 1 et 2 : Planche n° XLVI).

Nous nous sommes demandé comment une telle richesse en protéines et une telle survie pouvaient s'expliquer. Deux interprétations peuvent être données :

- Une étude du poids frais et de la teneur en eau (en % par rapport au poids frais) des chenilles ligaturées,

VARIATIONS DU POIDS FRAIS ET DE LA TENEUR EN EAU (%)

DES TEMOINS DE LA IVe MUE A L'EMERGENCE, ET DES CHENILLES LIGATUREES Th_1/Th_2

CHEZ *PIERIS BRASSICAE*

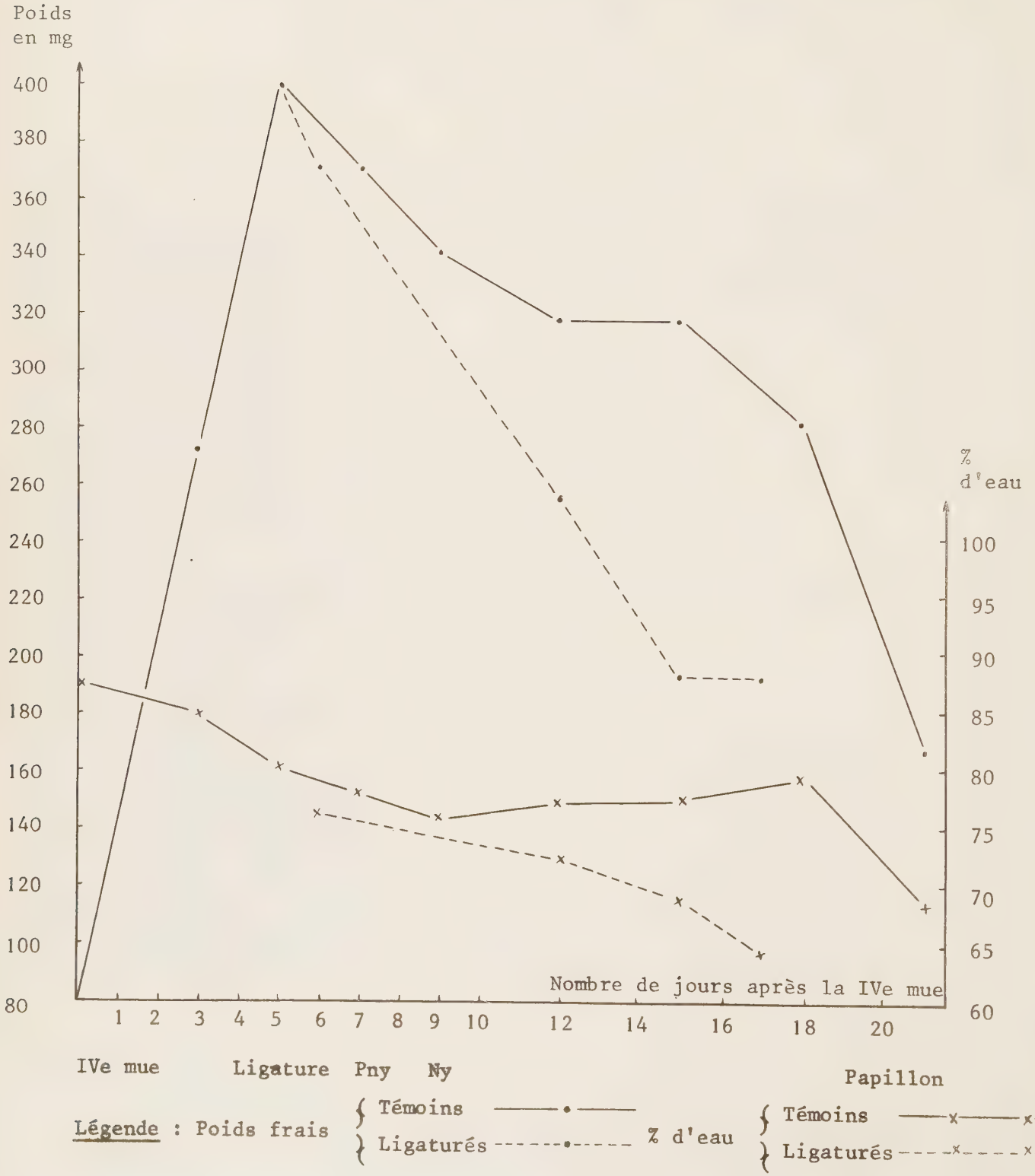


PLANCHE N° XLVII

comparée à celle des témoins, montre (Planche XLVII) que les animaux ligaturés subissent une perte de poids frais considérable, pour atteindre un poids assez voisin de celui du papillon, et une perte d'eau supérieure à celle des témoins.

La perte d'eau permet donc d'expliquer la relative concentration des protéines de l'hémolymphe.

- L'étude des broyats de tissu adipeux des chenilles ligaturées montre, par rapport aux témoins, que les protéines de ce tissu adipeux deviennent de moins en moins concentrées alors que la survie s'achève. Ce sont les protéines 2 et 3 (acétate de cellulose), normalement très abondantes dans le tissu adipeux, qui diminuent de concentration. Elles sont donc libérées dans l'hémolymphe où elles s'accumulent. (Elect.3 à 9 : Planche n° XLVI).

Le fait que l'hémolymphe change de couleur au cours de la survie peut s'expliquer en faisant appel aux études de R. H. HACMAN (1952) et plus spécialement à celles de L. P. S. VAN DER GEEST (1968). Pour ces auteurs en effet, 2 pigments coexistent dans l'hémolymphe de la Piéride du chou :

- 1 pigment jaune d'origine alimentaire (carotène + lutéine) ;

- 1 pigment bleu, vraisemblablement synthétisé par l'animal (mésobiliverdine) et dont la concentration est maximale au moment de la prénymphose.

Chez les chenilles s'alimentant, le pigment jaune domine : l'hémolymphe est jaune. Elle devient jaune-vert chez les nymphes. Nous n'avons jamais constaté de différence sexuelle dans la couleur de l'hémolymphe de ce Lépidoptère, comme celle signalée par O. STECHE (1913) alors que L. P. S. VAN DER GEEST (1968) observe une hémolymphe bleue chez des chenilles de Piérides élevées sur milieu synthétique dépourvu de feuilles.

Chez les chenilles ligaturées, un nou-

vel équilibre doit s'établir entre pigment jaune et pigment bleu. Ce dernier doit être libéré du tissu adipeux dans l'hémolymphe et sa plus grande concentration amène le mélange jaune + bleu à la teinte verte observée.

Conclusions

Les résultats obtenus par ligature tête/thorax, chez la Piéride du chou, sont identiques à ceux obtenus chez la Spongieuse.

La ligature Th_1/Th_2 élimine les glandes céphaliques et la glande thoracique. L'hémolymphe de ces chenilles en survie, de teinte verte, est très riche en protéines de type larvaire parce que le tissu adipeux a déversé ses protéines dans l'hémolymphe, et de plus, parce que la teneur en eau a diminué au cours de la survie.

CONCLUSIONS

Les ligatures faites en fin d'alimentation indispensable et avant le filage, en arrière de Th_1, isolent à l'avant le complexe endocrinien céphalique et la glande thoracique, empêchant ainsi la diffusion de l'ecdysone vers l'arrière. (W. J. BURDETTE - 1961 , par dosage de l'ecdysone chez le Ver à soie, montre que le taux d'ecdysone augmente avant et diminue après la mue nymphale). L'animal reste de ce fait à l'état de chenille et la richesse apparente en protéines est le résultat, d'une part, de la diminution de la teneur en eau (entraînant une concentration relative des protéines), d'autre part, du fait que le tissu adipeux se vide des protéines qu'il avait au préalable stockées, par suite de l'absence d'ecdysone. Nous trouverons ultérieurement d'autres cas confirmant cette hypothèse.

Par ligature entre la tête et le thorax (ou par écérébration) de chenilles avant la d.d., on obtient des nymphes (acéphales ou sans cerveau) incapables de devenir papillons : la glande thoracique, en effet, n'a reçu que la 1re des 2 excitations nécessaires

des ganglions cérébroïdes, la seconde étant responsable de la mue imaginale.

L'hémolymphe des nymphes de Vers à soie a les propriétés de l'hémolymphe larvaire des prénymphes, alors que celle des nymphes de la Spongieuse et de la Piéride est de type nymphal ; elle est, de toute façon, bloquée à l'un de ces stades et n'évolue pas. Cette différence peut s'expliquer par le fait que la ligature, non seulement élimine le complexe endocrinien céphalique, mais de plus, emprisonne une quantité de soie plus ou moins grande selon l'espèce considérée. Chez le Ver à soie, les stimulines cérébroïdiennes émises avant la ligature (elles ont déclenché la nymphose par leur action sur la glande thoracique) sont déjà présentes en quantité suffisante, mais neutralisées par la soie ou ses précurseurs en rétention. En effet, si après écérébration au début du filage (stade "haubans"), les Vers subissent l'extraction mécanique de la soie, ils deviennent papillons. (J. LAHARGUE, 1961). Chez Pieris brassicae et Lymantria dispar, la soie retenue est en plus faible quantité que chez le Ver à soie, donc inhibe moins les stimulines cérébroïdiennes, d'où un blocage à un stade légèrement plus avancé (nymphe au lieu de prénymphe).

Dans le même ordre d'idée, chez le Ver à soie où, alors qu'une certaine quantité de soie a été filée, un couple de ligatures posées permet d'obtenir des N-O-N dont la portion intermédiaire reste chenille, son hémolymphe étant typique d'une nymphe, on peut penser que le filage réalisé avant la ligature est suffisant pour réduire l'inhibition des stimulines cérébroïdiennes. Le rapport des hormones (stimuline-ecdysone) est alors modifié et du même type que celui de la Spongieuse et de la Piéride ligaturées T/Th avant le filage. Il est difficile d'expliquer le retard de la morphogenèse par rapport à la protéinémie, sans envisager avec J. J. BOUNHIOL (1944) un facteur supplémentaire difficile à mettre en évidence.

III - MODIFICATION DU FILAGE

Expérimentalement, le filage peut être rendu nul chez une chenille de Lépidoptère. Trois moyens différents peuvent être utilisés :

- L'ablation totale des deux glandes séricigènes ;
- La section des sériciductes ;
- La cautérisation de la filière.

Les répercussions de ces diverses interventions sur le cycle biologique d'une même espèce sont différentes, et de plus, pour un même type d'expériences, varient d'une espèce à l'autre.

Nous indiquerons tout d'abord ces différences avant de préciser les modifications des protéinogrammes résultant de ces interventions.

A - DESTINEE DES ANIMAUX

1° - Après ablation des deux glandes séricigènes :

a - Technique

Pour l'ablation des glandes séricigènes, nous avons fabriqué une plaque d'opération comprenant :

- Un dispositif pour tenir, de manière lâche (c'est-à-dire sans serrer), la tête du Ver. A l'avant, un tout petit élastique permet, en le faisant appuyer sur la filière, de faire basculer la tête en avant, ce qui a pour but de tendre la zone thoracique 1, ainsi bien visible ;
- L'abdomen est maintenu tendu par un élastique appliqué à son extrémité.

Ce dispositif maintient le Ver immobile sans gêner l'extraction des glandes séricigènes.

On opère des animaux au milieu de l'avant dernier âge (quelques jours après la IIIe mue, ou IIIe bis), selon la technique décrite par S. CAVALLIN (1961). Le Ver anesthésié étant fixé sur la plaque opératoire, on fait au micro-scalpel, une incision transversale de la zone thoracique (prothorax) juste

en arrière de la tête ; un sériciducte est d'abord repéré, puis maintenu avec une pince fine. La glande séricigène (sériciducte + réservoir + glande) est tirée vers l'avant d'un mouvement continu, et surtout sans à-coups, de manière à l'extraire entièrement. La seconde glande sera enlevée par la même incision.

b - Résultats

Les Vers à soie, Spongieuses ou Piérides du chou ainsi opérés feront leur D. M., puis auront un développement normal, sans période de filage. Le dernier âge est plus long. Les animaux sont souvent plus gros que les témoins, donnent des nymphes puis des papillons.

Remarque :

Chez le Ver à soie, nous avons réalisé l'ablation totale d'une seule glande séricigène. Les animaux vont filer un cocon de taille normale mais peu dense. Ils donneront nymphes puis papillons.

2° - Après section des séricicductes ou cautérisation de la filière

a - Techniques

- Souvent, lors d'essais d'ablation totale, à l'extraction la glande séricigène se casse au niveau du réservoir, ce qui revient donc pratiquement à une section des séricicductes. Nous en avons d'ailleurs réalisé après la D. M. : la technique est la même que celle précédemment décrite, mais, après les avoir repérés, les séricicductes sont sectionnés sans que la glande soit extraite.

- Avant le filage, l'extrémité de la filière est brûlée à l'aide d'un thermocautère ; cette cautérisation empêche le filage.

b - Résultats

- Chez le Ver à soie, la section des séricicductes et la cautérisation de la filière ont le même effet (M. AMANIEU, 1955) : la nymphose a lieu normalement ; les nymphes

(Electrophorèse sur gel d'amidon)

Ablation totale bilatérale :

G_1 : Chenille translucide ;
G_2 : Prénymphe ;
G_3 : Nymphe de 1 jour.

Ablation totale unilatérale :

G_4 : Animal vagabond ;
G_5 : Prénymphe ;
G_6 : Nymphe très jeune ;
G_7 : Nymphe de quelques jours.

Ablation partielle :

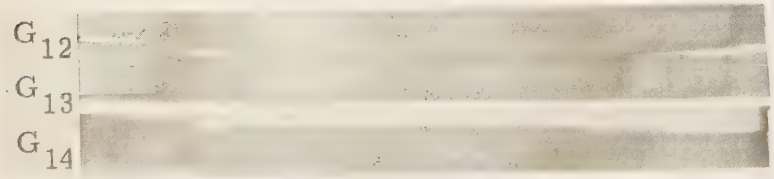
G_8 : Prénymphe ;
G_9 : Nymphe de 3 jours ;
T_1 : Prénymphe témoin ;
T_2 : Nymphe témoin ;

Cautérisation :

G_{10} : Nymphe jeune ;
G_{11} : Nymphe de quelques jours.

ROTEINES DE L'HEMOLYMPHE DES VERS A SOIE PRIVES DE CORPS ALLATES

(Electrophorèse sur gel d'amidon)



G_{12} : Ver au début du filage ;
G_{13} : Prénymphe femelle ;
G_{14} : Nymphe femelle de 3 jours.

PLANCHE N° XLVIII

obtenues sont volumineuses (l'appareil séricigène ne se résorbant pas), et ne donneront pas de papillons. La mort survient très vite. Leur survie est de cinq à six jours après la nymphose pour des opérations faites au printemps, mais beaucoup plus longue pour celles effectuées en automne. Les nymphes ont une nemolymphe très pigmentée et noircissent très vite.

- Chez la Spongieuse et la Piéride du chou, section des sériciductes ou brûlure de la filière avant le filage n'empêchent ni la nymphose, ni l'émergence ; il y a là une différence fondamentale avec le Ver à soie.

B - L'HEMOLYMPHE DES VERS NE FILANT PAS

1° - Cycle biologique non perturbé

a - Ablation des deux glandes séricigènes

- Chez le Ver à soie, les protéines sont étudiées par électrophorèse sur gel d'amidon. Rappelons tout d'abord que l'hémolymphe d'un Ver au filage, d'une prénymphe ou d'une nymphe, comprend 15 fractions migrant vers l'anode. Il en est de même après l'ablation des glandes séricigènes, chez une chenille translucide (Elect. G_1), une prénymphe (Elect. G_2), une nymphe de 1 jour (Elect. G_3 ; Planche n° XLVIII).

Remarque :

Comme précédemment, 15 fractions sont décelables chez l'animal vagabond (Elect. G_4), la prénymphe (Elect. G_5), la nymphe jeune (Elect. G_6), ou de quelques jours (Elect. G_7), préalablement privés d'une seule glande séricigène.

- Chez la Spongieuse, il résulte de la comparaison de l'hémolymphe (étudiée par électrophorèse en gel d'amidon) des prénymphes mâles et femelles dépourvues d'appareil séricigène, avec des prénymphes mâles et femelles témoins, qu'il n'y a pas de différence, mais que le dimorphisme sexuel signalé chez cette espèce est bien respecté (Elect. 5 et 6 ; Planche n° XLIX).

Au cours de la nymphose des mâles, l'évolution de l'hémolymphe semble normale ; diminution du taux de tou-

Electrophorèse sur papier

Cautérisation :

T - Nymphe témoin femelle de 5 jours ;
1 - Nymphe femelle de 4 jours ;
2 - Nymphe femelle âgée.

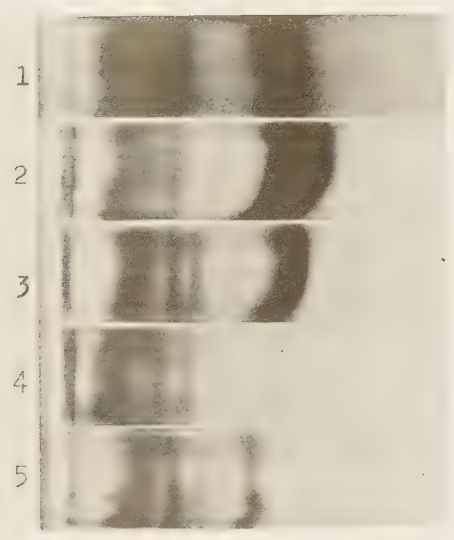
Electrophorèse sur gel d'amidon

Cautérisation :

1 - Nymphe femelle du jour ;
2 - Nymphe femelle de 3 jours ;
3 - Nymphe femelle de 6 jours ;
4 - Papillon femelle du jour ;
T - Papillon témoin femelle du jour.

Ablation totale bilatérale :

5 - Prénymphe femelle ;
6 - Prénymphe mâle ;
7 - Nymphe mâle de 8 jours ;
8 - Nymphe mâle âgée.

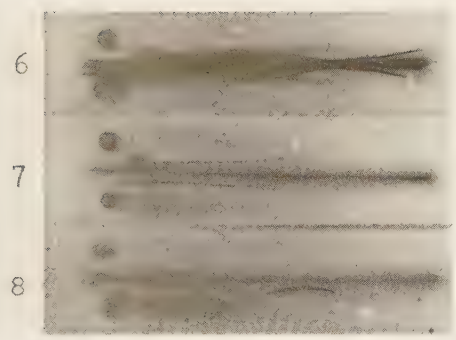


Electrophorèse sur acétate de cellulose

Ablation totale bilatérale :

1 - Chenille 4 jours après la IVe mue ;
2 - Nymphe femelle de 1 jour ;
3 - Nymphe femelle de 8 jours ;
4 - Papillon mâle ;
5 - Papillon femelle.

Immuno-électrophorèse



Cautérisation :

- Sérum anti-chenille :

6 { Nymphe mâle du jour ; / Prénymphe femelle.

7 { Papillon mâle du jour ; / Papillon femelle de 3 jours.

- Sérum anti-oeufs :

8 { Papillon mâle du jour ; / Papillon femelle de 3 jours.

tes les fractions, à l'exclusion du composé n° 2 (Elect. 7-8 ; Planche n° XLIX) ;

- Chez la Piéride, l'électrophorèse sur acétate de cellulose (Planche n° L) montre une évolution normale de la IVe mue à l'émergence (Elect. 1 à 5) et l'apparition de la protéine F chez le papillon femelle.

b - Section des sériciductes et brûlure de la filière

- La Spongieuse (Planche n° XLIX)

Les nymphes obtenues ont une hémolymphe typique, tant par électrophorèse sur papier (Elect. 1-2) que par électrophorèse en gel d'amidon (Elect. 1 à 3). On n'observe pas de différence entre l'hémolymphe d'un papillon témoin et celle d'un papillon obtenu après brûlure de la filière (Elect. 4-5).

- La Piéride

L'hémolymphe des prénymphes, nymphes et papillons mâles et femelles, issus d'animaux dont la filière a été cautérisée, est tout à fait comparable à celle des témoins, la protéine F apparaissant bien chez les papillons femelles (Planche n° L).

2° - Cycle biologique perturbé

Section des sériciductes et cautérisation de la filière du Ver à soie (Planche n° XLVIII) ; ces deux interventions conduisent à la mort à l'état nymphal. Du point de vue des protéines de l'hémolymphe, on constate que :

- Dans le premier cas, l'hémolymphe d'une prénymphe (Elect. G_8) ou d'une nymphe de 3 jours (Elect. G_9) comparée à celle des témoins (Elect. T_1), semble être particulière. Les fractions protéiques migrant très en avant et numérotées par nous 12, 13, 14 et 15 sont absentes.

- Dans le second cas, l'étude du sang des nymphes jeunes (Elect. G_{10}) ou de quelques jours (Elect. G_{11}) permet de faire la même constatation que précédemment.

CONCLUSIONS

Seule la cautérisation avant le filage, de la filière du Ver à soie, empêche l'achèvement du cycle biologique. Les nymphes, à appareil séricigène hypertrophié, ne deviendront jamais papillons. L'hémolymphe de ces nymphes est typique : riche en certaines protéines, mais dépourvue de celles migrant électrophorétiquement loin.

Toutes les autres interventions portant sur l'appareil séricigène, et en particulier l'ablation des deux glandes, ne modifient pas l'évolution protéïque de l'hémolymphe au cours du cycle biologique.

L'hémolymphe contient des protéines et des acides aminés libres. La soie étant un enchaînement d'acides aminés, de nombreux auteurs se sont demandés quels étaient les rapports entre les protéines de l'hémolymphe, les acides aminés véhiculés par elle, et la soie.

Les écoles belge de M. FLORKIN, et japonaise de T. FUKUDA (1958) ont ainsi montré, en nourrissant des Vers avec des feuilles marquées (au 14_C), que 70 % des protéines de la soie dérivent de celles prélevées dans les feuilles de mûrier, 30 % provenant des protéines tissulaires et hémolymphatiques.

D'après ces travaux, il ressort que ce sont surtout les acides aminés libres de l'hémolymphe qui ont un rôle important. T. P. S. TEOTIA et C. P. PANT (1962), eux, indiquent que des auteurs russes, et plus particulièrement J. B FILIPPOVICH (1953), travaillant sur le Bombyx du chêne, avaient mis en évidence que les acides aminés libres présents dans l'hémolymphe étaient la seule source à partir de laquelle se faisait la synthèse de la soie.

Les auteurs se sont donc attachés à dénombrer ceux-ci,

puis à suivre leurs variations de concentration au cours du cycle de croissance du Bombyx normal ou soumis à certaines conditions expérimentales.

Nos résultats vont donc dans le sens de l'interprétation de la soie fabriquée surtout à partir des acides aminés libres de l'hémolymphe. Aucune protéine sériciformatrice ne peut être mise en évidence par la technique employée (électrophorèse sur gel d'amidon), bien que celle-ci permette un très bon fractionnement des protéines.

S. SRIDHARA et T. S. ANANTHASAMY (1963) pourtant, constatent, par électrophorèse sur gélose, chez les animaux privés des glandes séricigènes, l'absence d'une protéine qu'ils considèrent comme fabriquée par celles-ci ou en rapport avec elles.

Ces résultats sont difficiles à interpréter, J. B. FILIPPOVICH (1967) précisant récemment que "le métabolisme des acides aminés dans la glande séricigène présente un caractère d'autonomie".

IV - ABLATION DES CORPS ALLATES CHEZ BOMBYX MORI L.

L'ablation des corps allates (C.A.) chez un Ver à soie venant de faire la IIIe mue larvaire, entraîne la suppression de la IVe mue et l'apparition d'un filage, d'une nymphose, et d'une mue imaginale anticipés conduisant à l'obtention d'imagos naines.

J. LAHARGUE, nous a confié quelques-uns des animaux opérés par lui afin qu'il nous soit possible d'étudier, par électrophorèse sur gel d'amidon, les protéines de leur hémolymphe.

Ces animaux ne donnant, au moment de la piqûre, qu'une faible quantité de sang, nous avons été amené à faire des pistes de migration plus étroites : 1,5 cm au lieu de 3 cm.

L'hémolymphe d'un Ver normal venant de faire la IIe mue, étudiée en gel d'amidon, révèle :

- Un taux protéique très faible ;
- Une douzaine de fractions migrant vers l'anode : une seule de ces fractions domine les autres par sa densité ;

- Une seule fraction migre vers la cathode, et, de part et d'autre du point de dépôt, il n'y a pas de protéines visibles.

Nous avons étudié le sang d'animaux privés de C.A. : Ver au début du filage (Elect. G_{12}), prénymphe femelle (Elect. G_{13}), nymphe femelle de trois jours (Elect. G_{14}). De l'observation de ces trois protéinogrammes (voir planche n° XLVIII), il ressort que :

- Le taux protéique est relativement élevé ;
- Les fractions migrant vers l'anode sont nombreuses, et plusieurs (3 à 4) fortement concentrées ;
- La fraction migrant vers la cathode, de manière assez importante, ainsi qu'un constituant protéique migrant très peu par rapport au point de dépôt, apparaissant chez les témoins au moment de la montée et du filage, et qui persiste pendant toute la vie nymphale, sont visibles.

L'existence de cette dernière fraction est la preuve que l'hémolymphe a subi une évolution accélérée, tout à fait comparable à celle de l'animal normal.

V - CONCLUSIONS

Dans ce chapitre, nous avons vu que les interventions n'empêchant pas la réalisation de la mue imaginale, à savoir : ligature ou écérébration de la chenille après le filage, ou écérébration de la très jeune nymphe chez le Ver à soie, la Spongieuse et la Piéride du chou, brûlure de la filière avant le filage chez la Spongieuse et la Piéride seulement, ablation des deux glandes séricigènes chez ces trois Lépidoptères, n'ont pas d'influence sur l'état protéique de l'hémolymphe qui se révèle identique à celui des témoins.

Certaines conditions particulières perturbent le cycle biologique des Lépidoptères, et les modifications protéiques suivantes en résultent :

1° - Les chenilles en survie après mise à jeun ont les protéines de leur hémolymphe qualitativement identiques à celles de la chenille au moment de la mise à jeun, mais quantitati-

vement déficientes. Il y a, du fait du jeûne, un blocage physiologique (par arrêt de sécrétion des glandes endocrines, et en particulier des cérébroïdes), entraînant l'absence de synthèses protéiques au niveau du tissu adipeux. De ce fait, de nouvelles fractions ne s'accumulent pas dans l'hémolymphe et leur nombre reste identique à celui du début de la mise à jeun. La diminution relative de concentration des fractions préexistantes est probablement la conséquence d'une augmentation de la teneur en eau et de leur utilisation au cours de la survie. L. BAUD (1967) montre que cette survie est due, chez le Ver à soie, à une consommation de glycogène : "la perte totale dépasse 90 % du stock initial de glycogène présent au début de l'expérience".

2° - Les ligatures faites en fin de période d'alimentation indispensable et avant le filage, en arrière de Th_1, bloquent l'animal au stade chenille. La richesse apparente en protéines est due à la diminution de la teneur en eau et à l'accumulation dans l'hémolymphe des protéines libérées par le tissu adipeux en l'absence d'ecdysone.

3° - L'hémolymphe des nymphes acéphales (ou sans cerveau) définitives du Ver à soie a les propriétés de l'hémolymphe larvaire de prénymphe alors que celle de la Spongieuse et de la Piéride est de type nymphal. Dans les deux cas, la protéinémie est bloquée à ce stade et n'évolue pas.

Cette différence est liée à une plus ou moins grande quantité de soie (ou de précurseurs) en rétention (il en est de même des N-O-N), alors que la stabilité généralement observée est, comme nous l'avons indiqué précédemment, l'apanage de la diapause. L'imprégnation hormonale de ces nymphes acéphales est du même type que celle des chenilles donnant normalement des nymphes diapausiques. Une première émission de stimulines cérébroïdiennes déclenche la sécrétion d'ecdysone et provoque la nymphose. La deuxième émission de stimulines ne peut avoir lieu chez les ligaturés, ou est trop faible chez les chenilles devant donner des nymphes diapausiques.

4° - Alors que nous expliquons les anomalies protéi-

ques constatées par des modifications des phénomènes endocriniens, l'ablation des corps allates nous apporte la preuve que l'état protéique de l'hémolymphe des Lépidoptères est, en effet, lié à l'activité des glandes endocrines.

L'ablation des corps allates après la IIIe mue provoque un filage prématuré et les protéines sont tout-à-fait comparables à celles d'un fileur ayant accompli un nombre normal de mues larvaires.

L'hémolymphe, et en particulier les protéines qu'elle contient, est caractéristique de chaque stade physiologique et de ses possibilités morphogénétiques. L'état électrophorétique des protéines traduit, à coup sûr, l'état physiologique. Si l'on crée expérimentalement un état physiologique nouveau, l'électrophorèse des protéines révèle ce nouvel état.

--o-O-o--

C H A P I T R E IV

PROTEINES IMPLIQUEES DANS LA GAMETOGENESE

Dès 1954, H. TELFER montre que, chez les Lépidoptères (*Hyalophora cecropia*), les protéines de l'hémolymphe participent à la fabrication du vitellus protéique.

Depuis, de nombreux travaux (analysés en fin de chapitre) ont été réalisés sur ce sujet, mais sur des Insectes à longue vie imaginale.

Nous nous sommes intéressé à deux types de Lépidoptères :

- Ceux (*Bombyx mori* et *Lymantria dispar*) pour lesquels le développement de la gonade se fait durant la nymphose et ne nécessite pas la présence des corps allates ;
- Celui (*Pieris brassicae*) pour lequel le mûrissement de la gonade, et en particulier la vitellogenèse, n'est achevé que 4 à 5 jours après l'émergence et dont la réalisation ne peut se faire en l'absence des corps allates.

Dans la première partie de ce travail, nous comparerons les protéines de l'hémolymphe des animaux normaux, celles de l'oeuf et celles de l'hémolymphe des animaux castrés. Puis, dans une seconde partie, étudiant plus spécialement la Piéride du chou, nous montrerons comment on peut envisager le lieu et le mode de fabrication des protéines vitellogènes, puis le contrôle endocrinien de ces phénomènes. Ces résultats seront comparés à ceux obtenus chez le Ver à soie et la Spongieuse, puis à ceux des autres Insectes.

I - MISE EN EVIDENCE DE L'UTILISATION PAR LA GONADE DES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE

Nous avons comparé les protéines de l'hémolymphe des animaux normaux (papillons mâles et femelles) à celles des animaux castrés, et aux protéines solubles de l'oeuf (oeufs broyés en solution tampon).

Chez les chenilles après la IIIe mue ou la IIIe bis, la castration est réalisée par deux incisions dorsales au niveau du 5e segment abdominal. Elle n'empêche pas l'achèvement normal du cycle biologique de l'animal. Les imagos femelles castrées de Bombyx mori et de Lymantria dispar ont l'abdomen très dilaté et saignent abondamment. Les imagos mâles de Lymantria dispar n'ont pas été étudiées.

A - BOMBYX MORI L.

1° - Rappel de l'évolution des témoins

a - Electrophorèse sur gel d'amidon (Pl. n° LI)

Trois fractions au maximum sont observables et migrent vers la cathode. La plus distale, n° -3, est importante chez la larve. Elle diminue de concentration chez la nymphe et devient solitaire chez le papillon. Une fraction fortement concentrée, n° -1, migrant très peu, apparaît au début du filage et persiste pendant toute la vie nymphale. Elle disparaît chez le papillon. Entre ces deux constituants, une fraction n° -2, très faiblement concentrée, est quelquefois visible.

Quinze fractions au maximum migrent vers l'anode, la n° 15 étant la plus distale ;

- A la fin du 4e et au début du 5e âges, la fraction n° 5 (c'est une chromoprotéine) domine les douze composants alors visibles ;

- Avant la montée, les fractions n° 1, 3 et 4 apparaissent, l'ensemble 4 + 5 étant déjà très concentré ;

- Au début du filage, la fraction n° 1 chez le mâle, ou n° 2 chez la femelle, acquiert une concentration d'importance égale à l'ensemble 4 + 5 ;

- Chez les jeunes nymphes, on peut distinguer les mêmes fractions avec toujours la différence sexuelle constatée au début du filage. Vers la fin de la vie nymphale, plusieurs fractions ont une importante concentration : ce sont les n° 1, 4+5, 7, 11 et 15 ;

- Chez les papillons, le taux protéique est très faible et, seules sont bien visibles les fractions distales n° 11, 14 et 15 (Elect. I et III de la planche n° LI) ;

- Les protéines solubles des oeufs, obtenues en broyant ceux-ci dans un peu de solution tampon, sont semblables à celles trouvées dans l'hémolymphe de la chenille avec, en particulier, une grande concentration des composants n° 3 et 4 + 5 (Elect. V).

b - Electrophorèse sur papier

Les faits suivants ont été mis en évidence :

- Quatre fractions protéiques : b_0, b_1, b_2 et b_3 sont visibles au début du dernier âge ;

- L'apparition de b_x, puis le dédoublement de b_1 en b_1-b_1', se produisent au cours de ce même stade et avant le filage ;

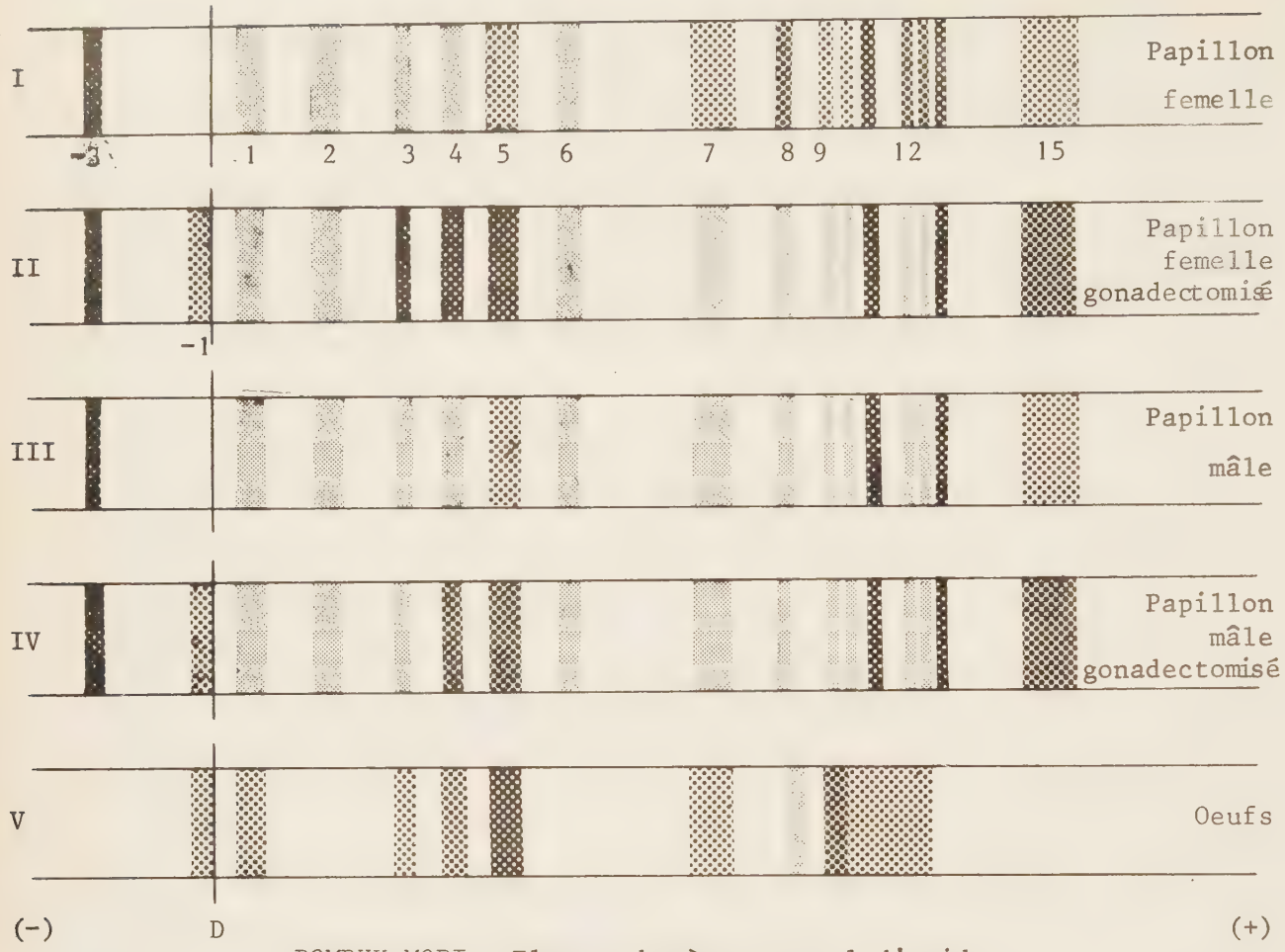
- Au moment du filage, b_3 est très importante et il apparaît une nouvelle fraction b_4 ;

- Au cours de la prénymphose, b_3 diminue, et les 7 constituants sont présents. Chez la nymphe, l'ensemble b_1-b_1', b_2 et b_x domine, alors que b_3 et b_4 sont difficilement visibles ;

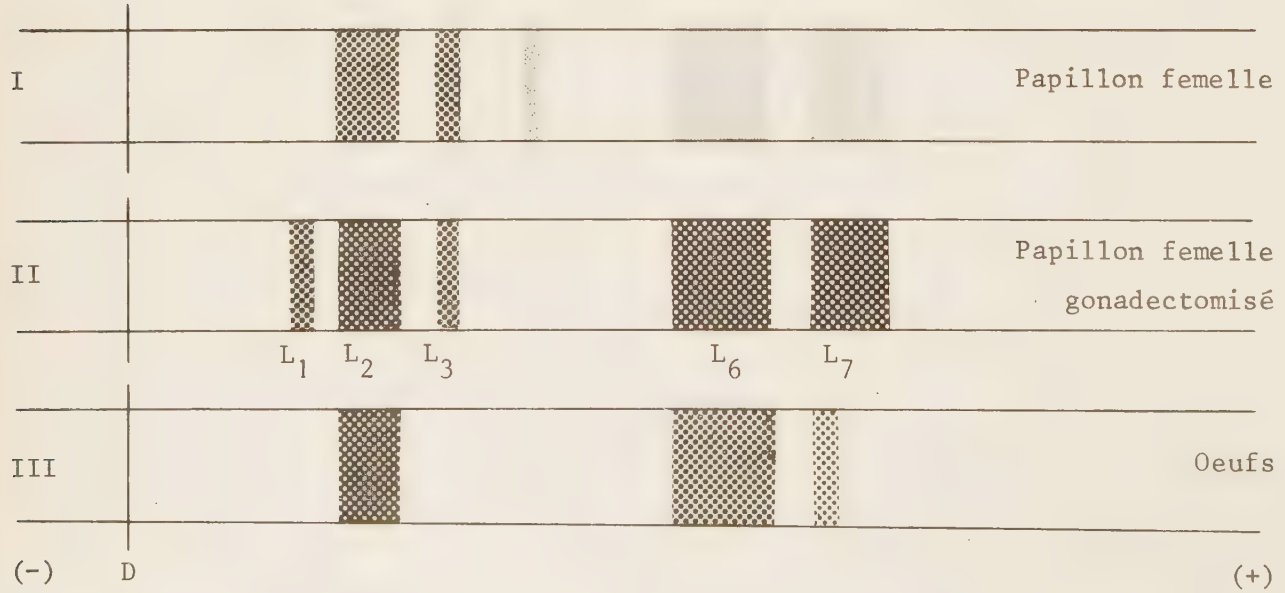
- Chez le papillon, une fraction b_a lente à migrer est fortement concentrée et accompagnée de 5 constituants qui, malgré leur migration irrégulière, correspondent aux fractions précédentes ;

LES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE ET LA REPRODUCTION

(SCHEMAS INTERPRETATIFS DES PROTEINOGRAMMES)



BOMBYX MORI : Electrophorèse sur gel d'amidon



LYMANTRIA DISPAR : Electrophorèse sur papier

PLANCHE N° LI

- Les oeufs renferment les protéines b_1-b_1', b_2, b_x et b_3 mais pas b_a, alors que, en plus, 2 fractions difficilement homologables, migrant très en avant, se distinguent.

2° - L'hémolymphe des Vers à soie privés de gonade

a - Electrophorèse sur gel d'amidon (Pl. n° LI)

Nous avons suivi l'évolution des protéines de l'hémolymphe de ces animaux gonadectomisés et, de la comparaison avec celle des témoins, nous retiendrons les faits suivants :

- Pour les animaux de sexe femelle considérés aux stades du filage, de la prénymphose ou pendant les six premiers jours de la vie nymphale, aucune différence nette n'est observable. C'est seulement quelques jours avant l'émergence que des différences apparaissent et sont confirmées par l'analyse du sang des imagos à l'émergence ou même âgées de 3, 4 et 5 jours. Si l'on compare le sang des papillons à l'émergence (Elect. I témoin et II opéré), on constate :

... le taux protéique élevé du sang des "gonadoprivés" par rapport à celui des témoins ;

... la concentration très importante des fractions migrant vers l'anode, en particulier n° 3, 4 et 5 ;

... la persistance vers la cathode du composé n°-1 qui disparaît normalement chez les papillons témoins.

- Chez les animaux de sexe mâle, les différences apparaissent en fin de nymphose, comme chez les femelles, mais sont beaucoup moins marquées. Il y a, là encore, persistance de la fraction n° -1 et concentration plus importante de l'ensemble 4 et 5 (Elect. IV).

b - Electrophorèse sur papier

Elle confirme, en particulier chez la femelle, les résultats précédents : l'hémolymphe d'un papillon femelle ovariectomisé est caractérisée, comparée à celle du papillon femelle témoin, par l'importante concentration des composés migrant en avant de b_a, à savoir b_1-b_1', b_2, b_x et b_3.

En résumé, chez la femelle du Ver à soie, quelques jours avant l'émergence, l'ovaire commence à fixer, ou fixe plus activement et préférentiellement certaines protéines de l'hémolymphe : celles numérotées par nous 3, 4 et 5, ou b_1, b_1', b_x, b_2 et b_3, et qui sont chez l'animal gonadectomisé, en excès par rapport à celles du témoin. Les mêmes sont abondantes dans les broyats d'oeufs. La gonade mâle fixe moins abondamment les composants 4 et 5, ce qui est en accord avec le fait connu que l'ovogenèse, à cause de la vitellogenèse, utilise plus de protéines que la spermatogenèse.

B - LYMANTRIA DISPAR

1° - Rappel de l'évolution des témoins

L'évolution des protéines au cours du cycle biologique est la suivante :

a - Par électrophorèse en gel d'amidon

Huit fractions protéiques au maximum sont visibles et numérotées de 1 à 8 ; elles migrent toutes vers l'anode :

- Lors de la dernière mue larvaire, trois fractions sont visibles chez le mâle, alors qu'il en existe cinq ou six chez la femelle ;

- Au cours du dernier âge, le nombre de fractions augmente jusqu'à huit, avec concentration de plus en plus grande de la fraction n° 3 ;

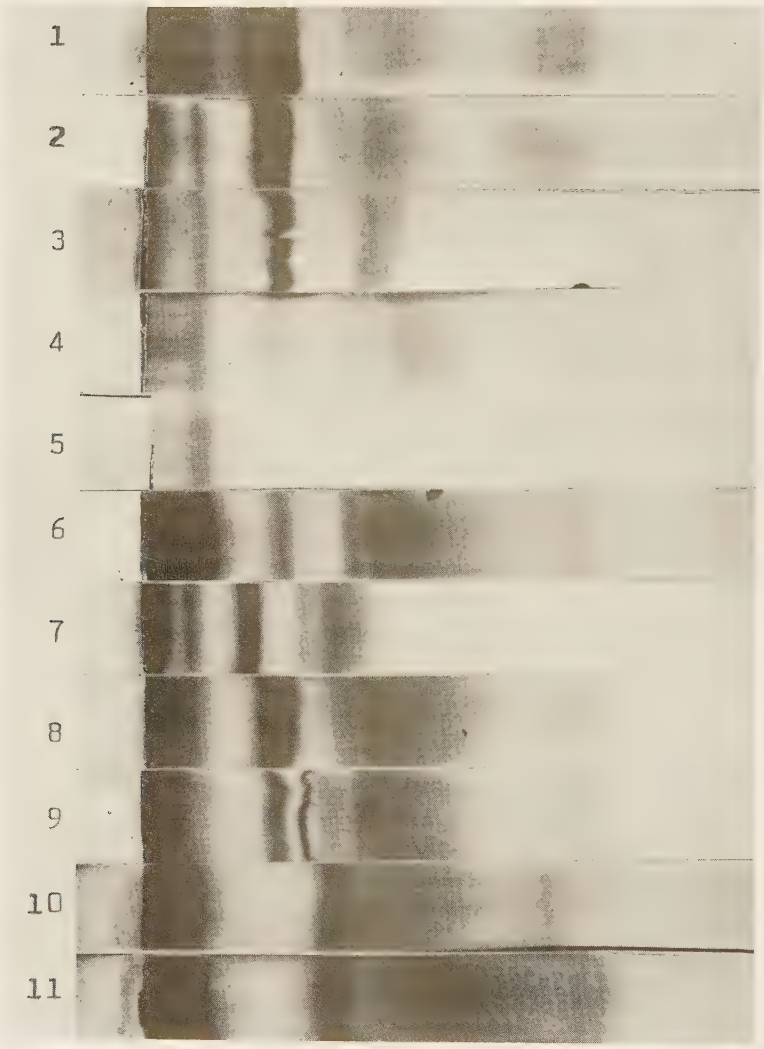
- Au moment du filage, une fraction n° 1, lente à migrer, apparaît chez les deux sexes. Lors de la nymphose, cette fraction disparaît chez les mâles mais persiste chez les femelles ;

- L'hémolymphe du papillon femelle est très appauvrie en protéines, la fraction n° 2, seule, restant concentrée ;

- Un broyat d'oeufs montre les protéines solubles n° 1, 2 et 3.

LES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE ET LA REPRODUCTION CHEZ *LYMANTRIA DISPAR*

(Electrophorèse sur gel d'amidon)



Gonadectomie :

Des mâles :

1 - Prénymphe ;
2 - Nymphe du jour ;
3 - Nymphe de 2 jours ;
4 - Nymphe de 14 jours ;
5 - Nymphe de 16 jours.

Des femelles :

6 - Nymphe du jour ;
7 - Nymphe de 1 jour ;
8 - Nymphe de 5 jours ;
9 - Nymphe de 8 jours ;
10 - Papillon de 1 jour ;
11 - Papillon de 2 jours.

PLANCHE N° LII

b - Par électrophorèse sur papier (Planche n° LI)

- Chez la chenille venant de faire la IVe mue (mâle), trois fractions (L_1, L_2 et L_3) sont visibles, alors que chez une femelle venant de faire la Ve mue larvaire, la fraction L_6 devient de plus en plus concentrée ;

- Au moment du filage, les composés L_2 et L_6 sont dominants et une septième fraction L_7 est apparue ;

- L'hémolymphe des prénymphes et des nymphes, femelles en particulier, ont une concentration importante en protéines, avec 7 fractions visibles jusqu'à la fin de la nymphose ;

- Lors de l'émergence, les papillons femelles ont une hémolymphe riche en composés L_2 et L_3 ; les autres s'appauvrissent et disparaissent au cours de la vie imaginale (Elect. I, Planche n° LI, p. 102-103) ;

- L'électrophorèse du broyat d'oeufs en solution tampon montre trois protéines solubles : L_2, L_6 et L_7 (Elect. III).

2° - Les protéines des gonadectomisés

a - Electrophorèse sur gel d'amidon (Planche n° LII)

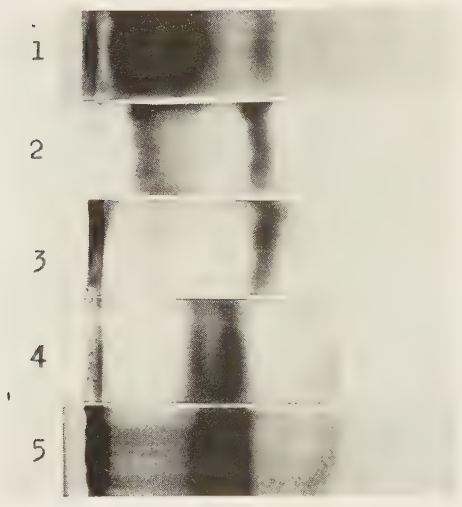
- Mâles : faite de la prénymphose à la fin de la nymphose, l'électrophorèse montre une évolution tout à fait comparable à celle observée chez les mâles témoins (Elect. 1 à 5) ;

- Femelles : l'électrophorèse de l'hémolymphe des femelles fait apparaître, contrairement à celle des mâles, des différences remarquables en fin de nymphose. Elles sont maximales chez le papillon à l'émergence ou même âgé de quelques jours, et sont d'ordre quantitatif : pratiquement toutes les fractions protéiques sont exagérément concentrées (Elect. 6 à 11).

b - Electrophorèse sur papier (Planche n° LI)

Elle confirme, chez les femelles, les résultats précédents : l'électrophorèse d'un papillon femelle privé

(Electrophorèse sur acétate de cellulose)



1 - Papillon femelle témoin du jour ;

2 - Papillon femelle du jour gonadectomisé ;

3 - Broyat d'oeufs ;

4 - Tissu adipeux de papillon mâle (broyat) ;

5 - Tissu adipeux de papillon femelle (broyat).

de gonades montre une concentration importante des composés L_2, L_6 et L_7 par rapport à celle des témoins (Elect. I et II, Planche n° LI, p. 102-103).

La gonade femelle de la Spongieuse fixe donc normalement pour la vitellogenèse protéique une quantité importante de protéines qui s'accumulent dans l'hémolymphe des ovariectomisées et se trouvent normalement en grande quantité dans les broyats d'oeufs (protéines 1, 2 et 3 ou L_2, L_6 et L_7).

C - PIERIS BRASSICAE

1° - Rappel de l'évolution des témoins

a - Electrophorèse sur acétate de cellulose

Les variations au cours du cycle biologique peuvent être résumées ainsi :

- Lors de la vie larvaire et nymphale, le nombre de fractions protéiques passe de deux à dix, sans différence nette entre mâle et femelle ;

- Au moment de l'émergence, les fractions 1, 2, 3, 9 et 10 sont présentes chez mâle et femelle, mais chez cette dernière existe une fraction spéciale, migrant à peu près comme la 7, et que nous nommons F (Elect. 1, Planche n° LIII) ;

- Peu après l'émergence, les fractions 3, 9 et 10 disparaissent chez mâle et femelle. Les fractions 1 et 2 du papillon mâle n'évoluent pas de manière caractéristique au cours de la vie imaginale (la fraction 1 représente 60 à 80 % des protéines totales, la fraction 2, 40 à 20 %) (Planche n° LV). Chez le papillon femelle, au cours des 15 jours de vie, les composés 1, 2 et F varient ainsi (valeurs en pourcentage du total : voir planche n° XXIII, p. 56-57) :

. La fraction 2 diminue, passant progressivement de 20 à 10 % ;

. La fraction F diminue tout d'abord (9 à 4 %) pendant les 4 ou 5 premiers jours, puis augmente, atteignant

39 %. Cette variation correspond à l'évolution de la gonade : c'est en effet seulement 4 ou 5 jours après l'émergence que les oeufs (70 à 100 comptés après dissection) arrivent à maturité ;

. La fraction 1 subit l'évolution inverse de F : les cinq premiers jours, augmentation de 50 à 75 %, puis diminution de 75 à 50 % ;

. Dans les oeufs, broyés avec un peu de solution tampon, on trouve 3 ou 4 protéines solubles avec prédominance de F (Elect. 3, Planche n° LIII).

b - Immuno-électrophorèse

Selon l'antisérum utilisé, l'évolution des protéines peut être résumée ainsi :

- Avec le sérum anti-chenille :

. De l'éclosion au début du dernier âge, un seul arc de précipitation est visible (arc 1) ;

. Après la IVe mue, chez mâle et femelle, l'arc 4 puis les arcs 2 et 3 deviennent visibles ;

. Deux à quatre jours avant la fin de la nymphose, les arcs 2 et 3, puis l'arc 4 disparaissent ;

. Au moment de l'émergence et au cours de la vie imaginale, seul l'arc 1 est décelable.

- Avec le sérum anti-oeufs :

. Pendant la vie larvaire et nymphale, un seul arc de précipitation apparaît chez mâle et femelle (arc I) ;

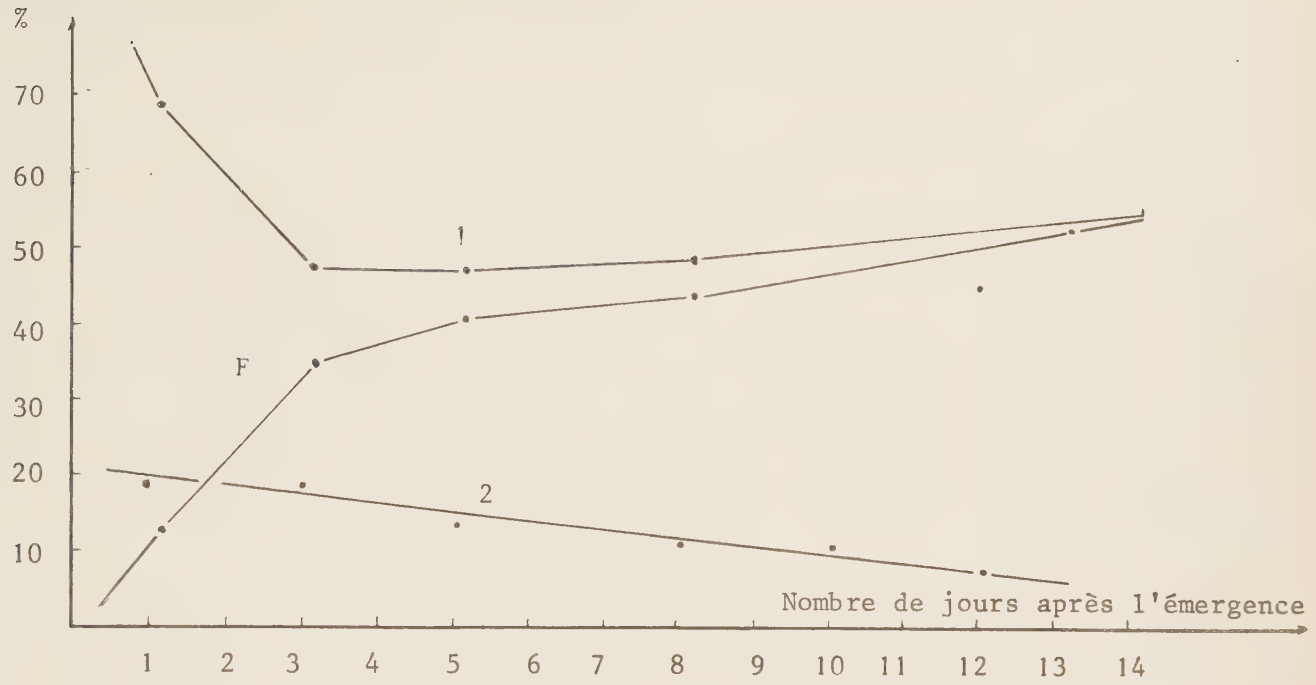
. Dès que le papillon devient visible sous la cuticule nymphale (48 à 72 h avant l'émergence), et seulement chez la femelle, un arc de précipitation supplémentaire devient visible (arc F). Il persiste durant toute la vie imaginale de la femelle, alors que chez le mâle, seul l'arc I est présent ;

. Le broyat d'oeufs montre deux arcs : I et F, ce dernier étant très allongé.

2° - L'hémolymphe des Piérides castrées

a - Electrophorèse sur acétate de cellulose

A - VARIATIONS RELATIVES (en %) DES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE CHEZ DES PAPILLONS FEMELLES GONADECTOMISES DE *PIERIS BRASSICAE*



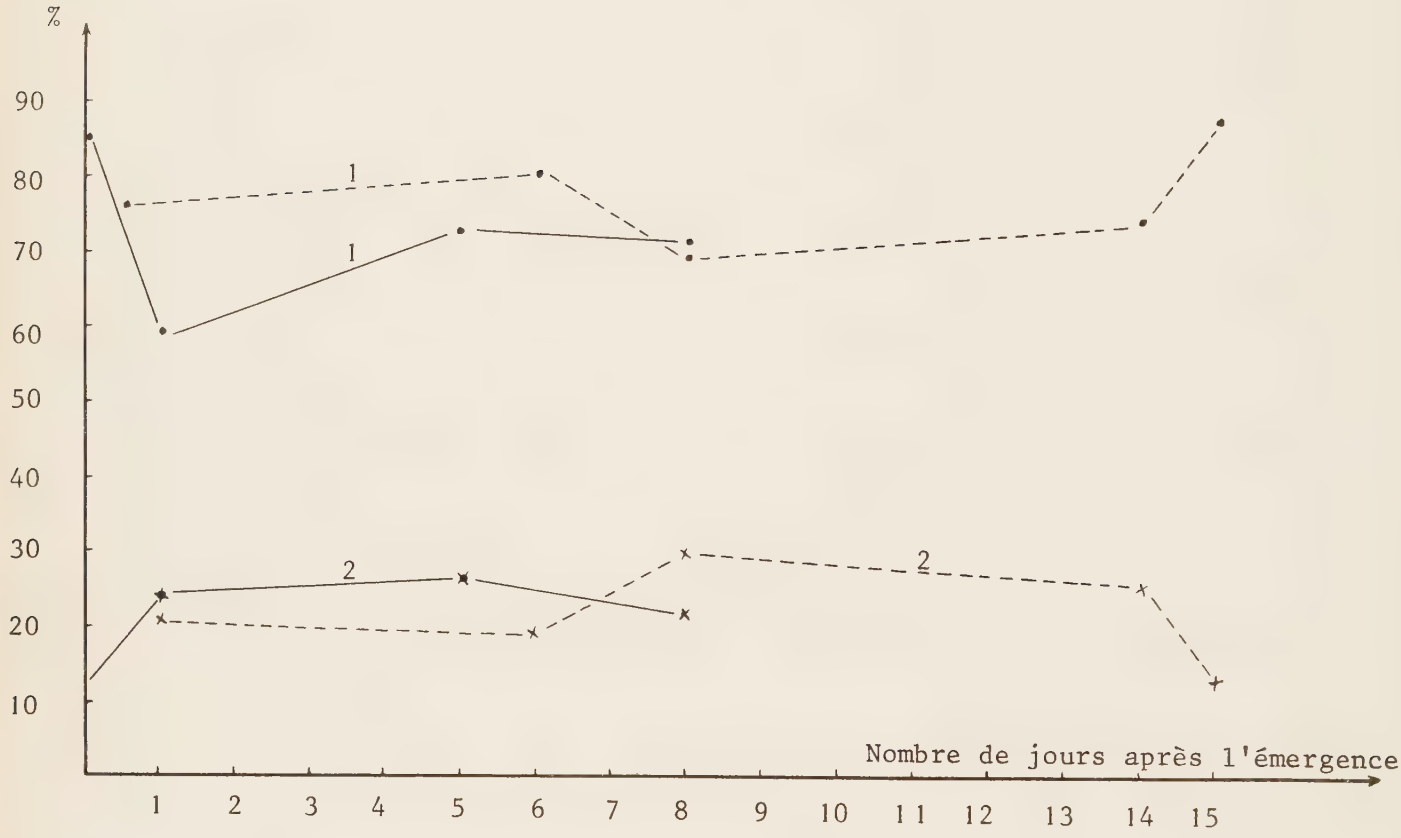
B - VARIATIONS COMPAREES DE LA PROTEINE F (en %) CHEZ DES PAPILLONS FEMELLES DE *PIERIS BRASSICAE* SOUMIS A DIVERSES EXPERIENCES

Légende : { Témoins : ——•—— ; Jeûneurs : ——×—— ; Gonadectomisés :----•---; Gonadectomisés jeûneurs :----×----

PLANCHE N° LIV

VARIATIONS RELATIVES (en %) DES PROTEINES DE L'HEMOLYMPHE

CHEZ DES PAPILLONS MÂLES TEMOINS ET GONADECTOMISES DE *PIERIS BRASSICAE*



Légende : Témoins : ——•——

Gonadectomisés : ------x------

PLANCHE N° LV

- Les femelles : par ablation des ovaires après la IVe mue, on obtient des papillons dont l'évolution des protéines de l'hémolymphe est la suivante :

. Les fractions 1, 2 et F sont visibles et cette dernière a une concentration très importante si l'on compare papillon femelle gonadectomisé, de un à cinq jours, et papillon témoin du même âge. Au-delà du cinquième jour, la différence s'atténue (Elect. 2, Planche n° LIII, p. 105-106) ;

. Sur une courbe de pourcentage des divers constituants, on voit (Planche n° LIV - A) que :

. la fraction 2 diminue de 20 à 10 % comme chez les témoins ;

. la fraction F augmente rapidement de concentration pendant les quatre premiers jours pour n'augmenter ensuite que faiblement, atteignant un taux de 50 % ;

. la fraction 1 varie à l'inverse de F : diminution rapide, puis augmentation lente jusqu'à 50 %.

- Les mâles : les protéines de l'hémolymphe des papillons gonadectomisés restent semblables à celles des témoins. Les fractions 1 et 2, seules visibles, évoluent peu au cours de la vie imaginale, et leurs pourcentages restent compris entre 60 et 80 pour la fraction 1, 20 et 40 pour la fraction 2 (Planche n° LV).

b - Immuno-électrophorèse

L'immuno-électrophorèse de l'hémolymphe d'un papillon femelle castré montre qu'en utilisant le sérum anti-oeufs, la protéine F y forme un arc très long par rapport à celui des témoins, preuve de sa grande concentration dans l'hémolymphe.

Ainsi, chez la Piéride, la fraction F est bien une protéine femelle caractéristique entrant dans la constitution du vitellus.

Les variations de concentration de cette protéine F chez les papillons femelles témoins et gonadectomisés sont opposées : diminution pendant les quatre ou cinq premiers jours pour les témoins, augmentation pour cette même période chez les castrés. La protéine F est donc synthétisée en abondance pendant les cinq premiers jours de la vie imaginale. Pompée par la gonade chez les témoins, son taux diminue alors qu'il augmente dans l'hémolymphe des gonadectomisés.

La période de quatre à cinq jours après l'émergence correspond à la fois à l'élaboration maximale des ovocytes et à une importante synthèse de la protéine F. Cette synthèse se continuant au-delà de cette importante vitellogenèse, une accumulation de la protéine F excédentaire dans l'hémolymphe est observée, du fait sans doute d'un pompage de moins en moins actif par l'ovaire.

Conclusions

Pour réaliser sa vitellogenèse protéique, l'ovaire du Ver à soie et de la Spongieuse fixe des protéines banales présentes dans l'hémolymphe tout au long des phases larvaire puis nymphale, alors que la Piéride du chou utilise une protéine particulière apparaissant en fin de nymphose dans l'hémolymphe des femelles seulement.

II - LIEU DE SYNTHESE DES PROTEINES VITELLOGENES

La synthèse de certaines protéines du Ver à soie, étudiée par H. SHIGEMATSU (1958-1960), se fait au niveau du tissu adipeux. Nous avons aussi pensé à ce tissu comme étant à l'origine des protéines vitellogènes, et étudierons d'abord ce qui se passe chez la Piéride quant à la protéine femelle.

A - LA PIERIDE DU CHOU

Nous pouvons affirmer que la protéine F n'est pas

synthétisée par la gonade ni par les glandes séricigènes puisqu'elle existe chez les castrés et les sériciprives. L'est-elle par le tissu adipeux ? Pour répondre à cette question, l'analyse du broyat de tissu adipeux s'impose.

Nous avons indiqué précédemment qu'au cours de la vie imaginale, la fraction F et la fraction 1 évoluent en sens inverse, ce qui nous mènera à penser que F provient de 1 : nous avons envisagé un phénomène de protéolyse et, afin de vérifier cette hypothèse, nous avons tenté de l'empêcher à l'aide de produits anti-hydrolysants.

1° - Les techniques

a - Broyat de tissu adipeux

Cinq animaux de mêmes âge et sexe sont disséqués. Le tissu adipeux est prélevé, lavé dans un peu de solution tampon (tampon de Smithies) et passé au microbroyeur en présence d'une faible quantité de tampon ou de solution physiologique. Nous avons ainsi étudié les broyats du tissu adipeux des mâles de la prénymphose à l'émergence, et des femelles de la prénymphose à 5 jours après l'émergence.

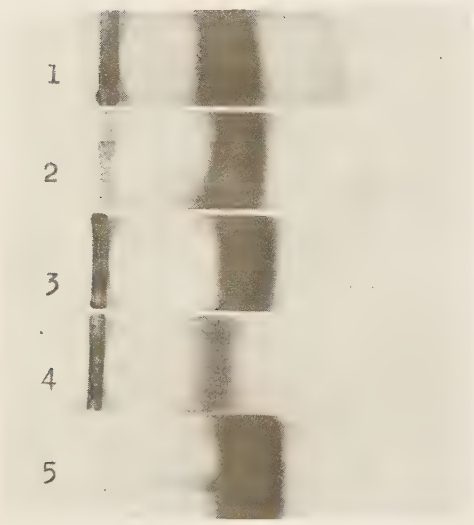
Le broyat a été analysé par électrophorèse sur acétate de cellulose, les protéines séparées étant comparées à celles de l'hémolymphe.

b - Essais de produits anti-hydrolysants chez des papillons femelles normaux

Les travaux de M. LECADET et G. CHEVRIER (1966), M. LECADET et R. DEDONDER (1966) ont montré que les protéases du chyle de Pieris brassicae sont de type zymogène. Aussi avons-nous pensé aux trois anti-hydrolysants suivants :

- L'Iniprol (Laboratoire Choay) à 200 000 unités I. P. et à 1 000 000 unités I. P. ;

RAPPORT ENTRE LES PROTEINES DU TISSU ADIPEUX ET CELLES DE L'HEMOLYMPHE CHEZ *PIERIS BRASSICAE*



Electrophorèse sur acétate de cellulose

Broyat de tissu adipeux :

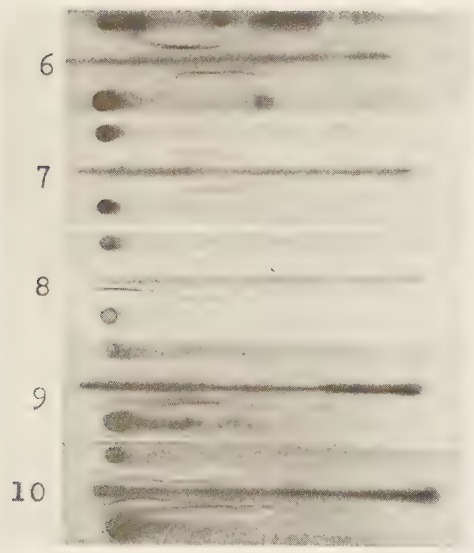
1 - Papillon mâle du jour ;
2 - Papillon femelle du jour ;
3 - Papillon femelle de 5 jours ;
4 - Papillon femelle de 10 jours.

Milieu d'incubation du tissu adipeux :

5 - Papillon femelle de 3 jours.

Immuno-électrophorèse (sérum anti-chenille)

Broyat de tissu adipeux - Protéines de l'hémolymphe de papillons traités par l'hémocaprol.



6 - Tissu adipeux de { papillon ♀ de 1 j. ; / papillon ♀ de 3 j. ;

7 - Tissu adipeux de { papillon ♀ de 4 j. ; / papillon ♂ de 4 j. ;

8 - Après injection d'hémocaprol { papillon ♂ de 3 j. ; / papillon ♀ de 3 j. ;

9 - Papillon mâle { témoin ; / traités ;

10 - Papillon mâle { témoin ; / ligaturé T/Th_1 et traité.

PLANCHE N° LVI

- Le Zymofren (Laboratoire Specia) ;
- L'Hémocaprol = acide amino-caproïque (Laboratoire Delagrange).

Des papillons femelles âgées de 0 à 24 h reçoivent une injection de 1 à 2/100e de ml du produit à tester. La piqûre est faite latéralement dans un intersegment abdominal, et une fois par jour de façon à maintenir l'organisme sous anti-hydrolysant.

2° - Résultats

a - Les protéines du broyat de tissu adipeux

Le broyat de tissu adipeux réalisé dans la solution tampon de Smithies ou la solution isotonique à 9/1 000, puis soumis à électrophorèse sur acétate de cellulose et à immuno-électrophorèse, nous montre (Planche n° LVI) :

- Par électrophorèse sur acétate de cellulose, deux fractions sont toujours présentes en grande quantité dans le broyat, quel que soit l'âge ou le sexe. Ce sont des protéines migrant comme les fractions 2 et 3 de l'hémolymphe. Elles sont très concentrées chez les papillons femelles, au point d'être difficilement séparables l'une de l'autre. En plus de ces deux fractions, et migrant en avant d'elles, on aperçoit souvent deux autres composés faiblement concentrés et dont la vitesse de migration est à peu près semblable à celle des protéines 5 et 7 de l'hémolymphe. Ces deux fractions sont présentes chez mâle et femelle. Il semble même qu'à l'émergence, elles sont en plus grande quantité chez le mâle que chez la femelle (Elect. 1 à 4, Planche n° LVI).

- Par immuno-électrophorèse

  ◦ Avec le sérum anti-chenille

  ◦ Dans les broyats de tissu adipeux de chenilles, puis de nymphes, deux arcs sont de plus en plus importants : ce sont les arcs 2 et 3 précédemment décrits. L'arc 4 existe, mais plus faiblement concentré ;

. Dans le tissu adipeux en grappes des papillons mâles ou femelles, ces arcs 2 et 3 sont très concentrés mais deviennent de moins en moins importants au fur et à mesure que ces animaux vieillissent (Elect. 6 et 7, Planche n° LVI).

Remarque : Il faut noter que le tissu adipeux en grappes de l'imago femelle, très abondant au début de la vie imaginale, diminue, "fondant" véritablement pendant que la vitellogenèse s'accomplit.

. Avec le sérum anti-oeufs

Quel que soit le sexe ou le stade considéré , nous n'avons jamais observé d'arc de précipitation dans les broyats de tissu adipeux : la protéine F n'y est donc pas stockée.

b - Après injection des produits anti-hydrolysants

- La survie maximale de ces animaux est de 5 jours, temps normalement suffisant pour la réalisation de la vitellogenèse ;

- La dissection des animaux montre que ceux traités par l'Iniprol à 200 000 ou 1 000 000 d'unités, ou par le Zymofren, ont un ovaire normalement développé : ces produits n'empêchent donc pas la vitellogenèse ; nous obtenons avec l'Hémocaprol un résultat contraire ;

- Immuno-électrophorèse (Planche n° LVI)

. Les papillons traités par l'Iniprol ou le Zymofren montrent des images électrophorétiques comparables à celles des témoins :

. arcs I et F (avec sérum anti-oeufs) ;

. arc 1 (avec sérum anti-chenille) ;

. Ceux traités par l'Hémocaprol ont une hémolymphe particulière :

. arcs I et F (avec sérum anti-oeufs) ;

. arcs 1, 2 et 3, et parfois 4 (avec sérum anti-chenille) (Elect. 8 et 9, Planche n° LVI, p. 110-111).

Conclusions

1° - La protéine F, dans les conditions de ces expériences, ne peut être décelée dans le broyat de tissu adipeux, et n'y est très vraisemblablement pas formée.

2° - Le tissu adipeux synthétise et stocke des protéines de type larvaire (arcs 2 et 3) au cours de la vie larvaire et nymphale.

3° - L'hémocaprol, injecté à des papillons femelles, 0 à 24 h après l'émergence, empêche la réalisation de la vitellogenèse et fait apparaître dans l'hémolymphe les protéines de type larvaire (arcs 2 et 3).

On peut donc penser qu'il existe dans l'hémolymphe des enzymes protéolytiques qui, dans l'organisme de la femelle normale, hydrolysent les protéines libérées par le tissu adipeux. La protéine F dériverait de ces produits d'hydrolyse :

- soit directement, c'est-à-dire sans synthèse, par modification simple (changement de structure tertiaire ou quaternaire -polymérisation ou dépolymérisation-) ou association avec un autre élément (non protéique ?) ;

- soit indirectement, c'est-à-dire par synthèse s'effectuant hors du tissu adipeux, dans un autre organe ou dans l'hémolymphe.

Le fait que la protéine F existe en petite quantité chez les papillons femelles traités par l'Hémocaprol, est dû à une intervention trop tardive. En effet, nous avons vu que 3 ou 4 jours avant l'émergence, les arcs 2 et 3 préexistant dans l'hémolymphe disparaissent et que la protéine F apparaît bien avant l'émergence, formée sans doute à partir de ces protéines 2 et 3 de l'hémolymphe.

L'apparition des enzymes protéolytiques semble correspon-

dre avec le moment des premières transformations imaginales.

B - LE VER A SOIE

Au cours du cycle biologique normal, nous avons vu par l'étude électrophorétique sur acétate de cellulose (similaire à celle par électrophorèse sur papier) des protéines de l'hémolymphe, qu'au moment du filage, six fractions sont visibles (la fraction b_3 étant très concentrée) et qu'au cours de la nymphose, les fractions b_3 et b_4 diminuent de concentration, seule la fraction b_a chez le papillon étant très importante.

L'évolution des protéines du tissu adipeux (étudié en broyat) du filage à la fin de la nymphose, montre les faits suivants :

- dans les broyats de tissu adipeux de chenilles au filage, 5 à 6 composés identiques à ceux de l'hémolymphe sont visibles, mais faiblement concentrés ;

- au moment de la prénymphose, puis au cours de la nymphose, les composés b_2 et b_3 deviennent plus importants.

Du point de vue anatomique, chez le papillon femelle à l'émergence, alors que l'abdomen est très dilaté par un nombre considérable d'oeufs, il n'y a pratiquement plus de tissu adipeux. Il ne reste plus qu'un réseau extrêmement dense de trachées.

En résumé, de l'étude de ces résultats, nous pouvons conclure que :

- chez le Ver à soie, le tissu adipeux subit une évolution inverse de celle de l'ovaire. Il disparaît progressivement alors que la vitellogenèse s'accomplit, et il persiste chez les femelles castrées ;

- au cours de la prénymphose et de la nymphose, le tissu adipeux est riche en protéines (protéine b_3 par exemple, qui diminue alors de concentration dans l'hémolymphe) ;

- lorsque les phénomènes de vitellogenèse commencent, le stock des protéines de l'hémolymphe (b_1, b_1', b_2, b_x) s'appauvrit soudain ;

- ces diverses protéines adipocytaires participent à la formation du vitellus de l'oeuf du Ver à soie.

C - LA SPONGIEUSE

Le tissu adipeux de la Spongieuse subit une évolution morphologique comparable à celle du Ver à soie : très abondant chez la nymphe, il est très réduit chez le papillon (G. GERE - 1964).

Les protéines de ce tissu adipeux présentent les caractéristiques suivantes :

- la fraction L_6 est très concentrée (alors que sa concentration diminue dans l'hémolymphe) ;
- les fractions L_1 et L_2 sont bien visibles ;
- les autres fractions sont faiblement concentrées.

CONCLUSIONS

Le tissu adipeux des Lépidoptères, organe de synthèse protéique importante, élabore les protéines vitellogènes qui sont :

- soit utilisées telles quelles par la gonade du Ver à soie et de la Spongieuse ; ces protéines proviennent directement du tissu adipeux ou sont déversées dans l'hémolymphe au début de la nymphose ;

- soit transformées en protéine spéciale F, avant d'être pompées par l'ovaire de la Piéride du chou. Les protéines adipocytaires servent alors de précurseurs à la protéine vitellogène F.

III - CONTROLE ENDOCRINIEN DE LA VITELLOGENESE PROTEIQUE CHEZ PIERIS BRASSICAE L.

A. KARLINSKY (1962-1963) a montré, par des techniques

chirurgicales délicates, que la Piéride du chou ne peut réaliser sa vitellogenèse en l'absence de corps allates.

Ces expériences peuvent être remplacées, avec le même effet, chez les papillons à l'émergence, par la ligature entre tête et thorax. Nous aborderons ce problème par des méthodes variées qui, bien qu'exigeant moins de virtuosité chirurgicale, nous ont permis d'obtenir un pourcentage de réussites bien supérieur, à savoir :

- jeûne ;
- acéphalisation ;
- injection d'Hémocaprol ;
- incubation de tissu adipeux ;
- section de nymphe.

Nous décrirons ces expériences avant d'indiquer les résultats obtenus. Pour ceux-ci, nous avons cherché à suivre :

- les variations de concentration relative de la protéine F (analysée par électrophorèse sur acétate de cellulose) chez les opérés, par rapport à celle des papillons femelles au cours de leur vie imaginale normale (Courbe I, Planche n° LIV), ou après castration (Courbe II). Dans les cas où cette protéine F est trop faiblement concentrée ou absente, une étude immuno-électrophorétique nous permettra de préciser la présence ou l'absence de l'arc de précipitation (F) ;

- la présence ou l'absence des arcs de précipitation n° 2 et 3, avec l'immunsérum antichenille chez les opérés, arcs disparaissant définitivement de l'hémolymphe des nymphes âgées normales.

A - LE JEÛNE

Ces expériences sont indispensables car elles serviront de référence à celles entraînant un jeûne forcé (en particulier les expériences de ligatures).

1° - Techniques

- Des papillons femelles sont mis dans une petite cage sans être nourris, dès l'émergence. Leur survie dans ces conditions est de cinq ou six jours, parfois sept. Les ovaires se développent normalement, mais le nombre d'oeufs mûrs élaborés pendant cette survie ne dépasse pas 50.

- Des papillons femelles gonadoprives sont mis à jeûner dans les mêmes conditions que précédemment. Leur survie est de sept à huit jours.

2° - Résultats

a - Papillon femelle à jeun

La protéine F montre une diminution progressive de concentration (exprimée en % dans la courbe III de la planche n° LIV), atteignant un taux semblable à celui des témoins. Cette diminution n'est pas suivie d'augmentation, la mort survenant avant.

b - Papillons gonadoprives à jeun

La protéine F augmente de concentration pendant les 4 ou 5 premiers jours, mais sans atteindre le pourcentage élevé des témoins castrés (26,5 au lieu de 41 %) (Courbe IV, Planche n° LIV B., p. 107-108).

En résumé, le jeûne n'empêche donc pas la synthèse de la protéine F, ni son utilisation par l'ovaire au profit du petit nombre d'ovules mûris.

B - L'ACEPHALISATION

1° - Techniques

a - Acéphalisation de papillons femelles normaux

Des papillons femelles sont isolés dès l'émergence, puis acéphalisés (par ligature tête/thorax avec du coton à broder) après un nombre d'heures déterminé.

Chez ces papillons acéphalisés, la survie peut varier de trois à douze jours ; elle est plus longue que celle des jeûneurs, ce qui est normal du fait de la mise en veilleuse de nombreuses fonctions métaboliques, de l'immobilité, etc...

Si la ligature est faite dans les 24 heures suivant l'émergence, l'observation de l'ovaire montre qu'il est de petite taille. Aucun oeuf n'arrive à maturité, la vitellogenèse ne pouvant se faire. Ces observations portent sur 30 papillons acéphalisés de 0 à 24 heures après l'émergence.

Nous avons observé, dans deux cas seulement, après ligature faite 24 à 48 heures après l'émergence, quelques oeufs arrivés à maturité : 5 chez un papillon mort 3 jours après la ligature, et 11 chez un autre mort 5 jours après.

b - Acéphalisation de papillons ovariectomisés

Les papillons castrés et acéphalisés ont une survie de trois à sept jours.

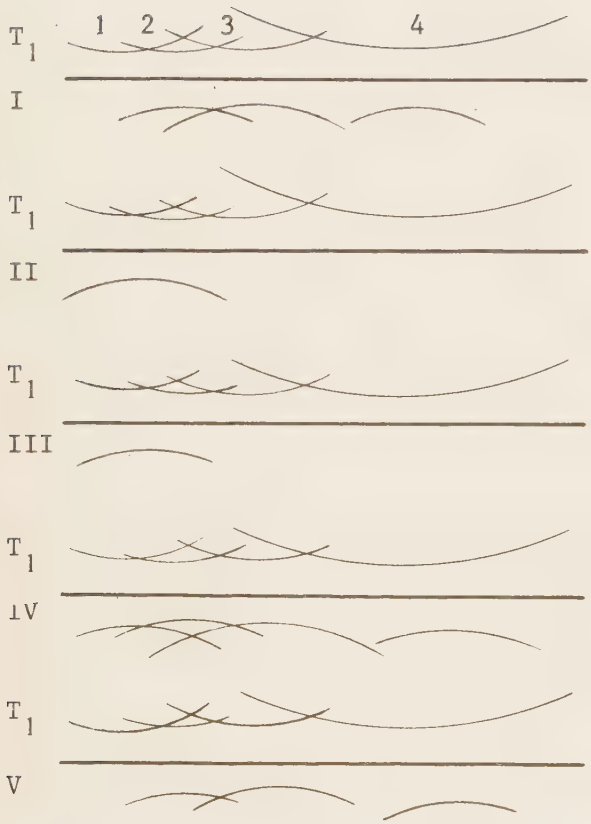
2° - Résultats

a - Papillons femelles normaux

Chez les acéphalisés, la fraction F comparée à celle des jeûneurs diminue très rapidement de concentration pour atteindre un taux très faible (bien inférieur à celui des jeûneurs), parfois même si faible qu'elle devient à peine visible sur les électrophorégrammes et n'est plus chiffrable lors de la photométrie.

De plus, on n'observe jamais dans l'hémolymphe des acéphalisés, les arcs 2 et 3, mais seulement l'arc 1 (Elect. III, Planche n° LVII).

INTERPRETATION SCHEMATIQUE DES PLANCHES N° LVI ET LVIII



Sérum anti-chenille :

T_1 : Chenille en fin de dernier âge ;

I : Broyat de tissu adipeux de papillon ;

II : Papillon mâle ou femelle ;

III : Papillon femelle ligaturé T/Th. ;

IV : Papillon femelle injecté avec l'hémocaprol ;

V : Papillon femelle à tissu adipeux histolysé, issu de nymphe sectionnée Th_1/Th_2.

Sérum anti-oeufs :

T_2 : Papillon femelle du jour ;

VI : Papillon femelle à tissu adipeux typique, issu de nymphe sectionnée Th_1/Th_2.

PLANCHE N° LVII

b - Papillons femelles castrés

L'électrophorèse d'un papillon femelle castré, ligaturé T/Th 0 à 24 h après l'émergence, et saigné 4 jours après la ligature, montre que la fraction F est absente, alors qu'au même âge, elle est de 26,7 % chez un papillon castré et à jeun.

Conclusions

L'acéphalisation de papillons femelles (ligatures faites 0 à 24 heures après l'émergence) entraîne donc :

- l'arrêt du développement de l'ovaire, arrêt dû à l'acéphalisation seule, et non au jeûne obligatoire qui en est la conséquence, puisque, comme indiqué précédemment, les jeûneurs ont une vitellogenèse qualitativement à peu près normale ;

- la diminution, et même la disparition complète de la protéine F de l'hémolymphe, que l'ovaire soit ou non présent, ce qui suggère un contrôle endocrinien céphalique.

C - INJECTION D'HEMOCAPROL

L'Hémocaprol a été injecté non seulement à des papillons femelles et mâles normaux, comme précisé antérieurement, mais aussi à des papillons femelles et mâles acéphalisés. L'effet de l'Hémocaprol est le suivant :

1° - Sur les papillons normaux

Nous avons vu que l'Hémocaprol injecté à des papillons femelles 0 à 24 heures après l'émergence empêche la réalisation de la vitellogenèse et fait apparaître dans l'hémolymphe des protéines de type larvaire (arcs 2 et 3) normalement abondantes dans le tissu adipeux (Elect. IV, Planche n° LVII, p. 117-118).

De la même manière, des papillons mâles sont traités par l'Hémocaprol 0 à 24 heures après l'émergence.

Au cours de la survie, l'hémolymphe a les mêmes caractéristiques que celle des femelles traitées et montre des protéines :

- de type imaginal (arc I) ;
- de type larvaire (arcs 1, 2, 3 et même 4)

(Elect. 8 et 9, Planche n° LVI, p. 110-111).

Il semble donc y avoir chez papillons mâles et femelles, un mécanisme semblable permettant la libération des protéines adipocytaires, puis leur hydrolyse par des enzymes contenus dans l'hémolymphe, hydrolyse qu'empêche l'Hémocaprol.

2° - Sur les papillons mâles et femelles ligaturés tête/thorax 0 à 24 h après l'émergence

Rappelons que, dans l'hémolymphe des papillons mâles et femelles ligaturés T/Th 0 à 24 heures après l'émergence, et dont la survie est de 15 jours, on ne trouve jamais les protéines larvaires précédemment décelées : arcs 2, 3 ou 4.

Au contraire, l'Hémocaprol y fait apparaître les protéines larvaires : arcs 2 et 3 (Elect. 10, Planche n° LVI).

Conclusions

La libération des protéines par le tissu adipeux ne semble pas être, et n'est sûrement plus, sous contrôle endocrinien céphalique.

L'hydrolyse des protéines ainsi libérées est toujours réalisable, sauf traitement par l'Hémocaprol, preuve que ces enzymes sont présents dans l'hémolymphe au moment de l'émergence.

D - INCUBATION DE TISSU ADIPEUX

1° - Technique

En collaboration avec J. P. BONNIN, nous avons réalisé des incubations de tissu adipeux en milieu artificiel, puis étudié les protéines libérées dans ce milieu.

- Le milieu est celui de CARLSON* (J. PAUL - 1961) ;

- Le tissu adipeux est prélevé après dissection des animaux dans une cuvette stérile contenant ce même milieu ;

- L'incubation, réalisée selon la technique de la goutte pendante, dure douze heures.

2° - Résultats

Le milieu d'incubation est prélevé à la micropipette et analysé par électrophorèse simple sur acétate de cellulose. Le tissu adipeux, après incubation, est microbroyé puis analysé pour l'étude des protéines qu'il contient encore.

Nous avons trouvé, dans le milieu d'incubation de tissu adipeux de papillons mâles et femelles, deux protéines abondantes identiques à celles trouvées dans les broyats (Elect. 5 - Planche n° LVI p. 110-111)

Bien que nous n'ayons pas fait cette étude en[121] immuno-électrophorèse, il n'est pas douteux que les protéines libérées par le tissu adipeux dans le liquide d'incubation correspondent aux protéines larvaires (arcs 2 et 3) normalement émises par le tissu adipeux dans l'abdomen du papillon.

En résumé, ces expériences montrent que le tissu adipeux des papillons mâles et femelles contient en grande quantité des protéines de type larvaire (arcs 2 et 3), qu'il a soit stockées, soit synthétisées activement, mais que, de toute façon, il

* Milieu de Carlson (en g/l) :

$NaCl$	7,0 g ;	$MgCl_2$	0,1 g ;
KCl	0,2 g ;	$NaHCO_3$	0,05 g ;
$CaCl_2$	0,02 g ;	NaH_2PO_4	0,2 g ;
		Glucose	0,8 g.

libère dans l'hémolymphe ou dans le milieu dans lequel il est en incubation. Cette libération se fait même en milieu anhormonal. F. M. BUTTERWORTH et D. BODENSTEIN (1967) sont arrivés, parallèlement à nous, à une conclusion semblable pour Drosophila.

E - SECTION DE NYMPHE

1° - Technique

Elle consiste à couper transversalement à la lame de rasoir, une nymphe à un niveau déterminé, puis à fixer le ou les morceaux sur une lamelle de verre, et empêcher l'hémorragie grâce à du lut de R. du NOYER (Lut lanoline-collophane) disposé en couronne autour de la zone de contact cuticulaire de la nymphe (technique décrite par J. C. ROY - 1962).

Les sections sont faites entre segments thoraciques n° 2 et n° 3 (Th_2/Th_3) sur des nymphes femelles d'âge varié.

Ce niveau de section a été choisi car il permet d'éliminer à coup sûr le complexe endocrinien de la nymphe, à savoir complexe céphalique et glande prothoracique. Cette dernière persiste chez les nymphes en hivernage prolongé (J. LAHARGUE-1951), alors qu'elle disparaît peu de temps après la nymphose chez nos animaux d'expérience dont la diapause a été empêchée.

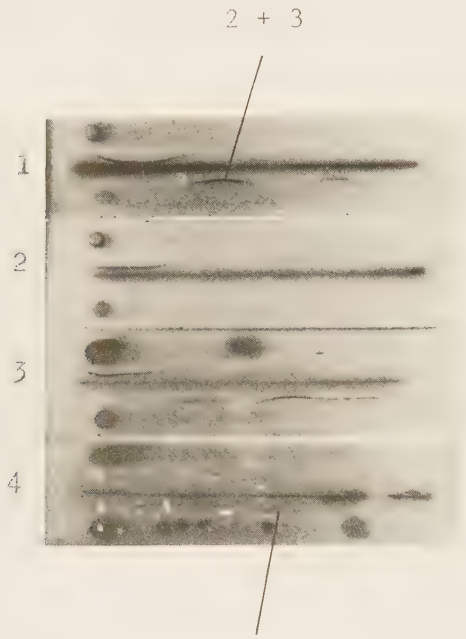
2° - Résultats

Les animaux étant gardés en pièce climatisée à 18°, nous constatons que les résultats diffèrent selon l'âge des nymphes sectionnées.

a - Nymphes de moins de 3 jours

La portion postérieure n'est pas capable,

(Immuno-électrophorèse sur acétate de cellulose)



Sérum anti-hémolymphe :

1 - Nymphe femelle témoin âgée
Papillon femelle à tissu adipeux histolysé ;

3 - Papillon femelle témoin du jour
Papillon femelle à tissu adipeux typique ;

Sérum anti-oeufs

2 Nymphe femelle témoin âgée
Papillon femelle à tissu adipeux histolysé ;

4 - Papillon femelle témoin du jour
Papillon femelle à tissu adipeux typique

PLANCHE N° LVIII

à elle seule, de devenir papillon. L'hémolymphe de ces nymphes définitives montre, par immuno-électrophorèse :

- avec le sérum anti-antichenille, les arcs 1 et 4, les arcs 2 et 3 étant absents ;

- avec le sérum anti-oeufs, aucun arc de précipitation (ni I, ni F).

b - Nymphes de plus de 3 jours

Les portions postérieures isolées à partir de la 72e heure nous permettent d'obtenir des papillons dans de bonnes proportions. Ceux-ci ont une gonade peu développée et ne survivent que peu de temps après l'émergence aidée par nous à la pince fine.

La dissection de ces papillons montre que :

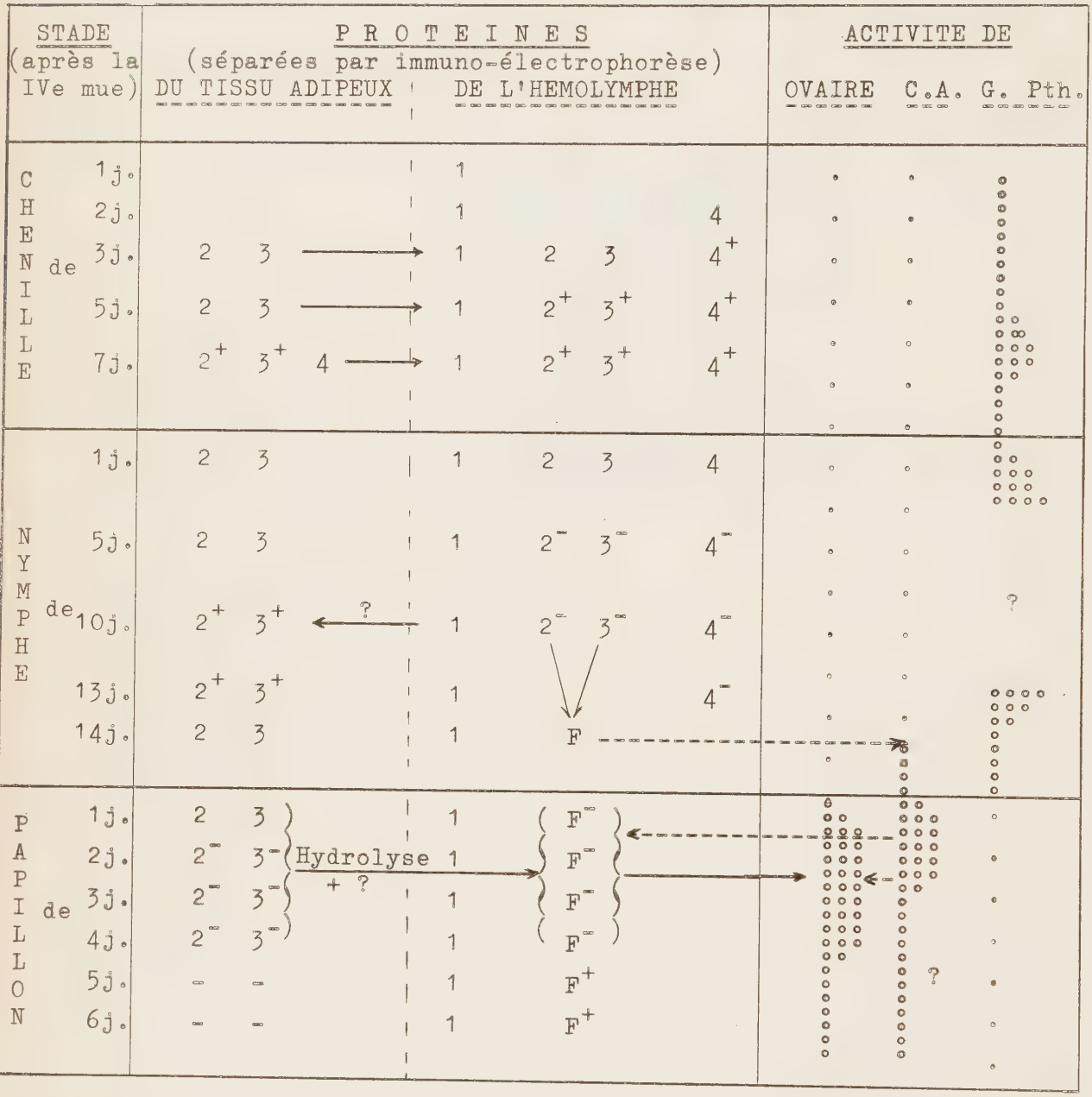
- le tissu adipeux de ceux provenant de nymphes sectionnées du 3e au 8e jour, est histolysé : il y a eu histolyse, mais pas rehistogenèse de ce tissu. De ce fait, l'hémolymphe est riche en protéines adipocytaires (arcs 2, 3 et 4), mais dépourvue de la protéine F (Elect. 1 et 2, Planche n° LVIII) ;

- le tissu adipeux de ceux provenant de nymphes sectionnées au-delà du 8e jour, est typique du stade imaginal : l'histogenèse a eu lieu normalement. Dans l'hémolymphe, les arcs 2, 3 et 4 sont moins importants et la protéine F, bien que peu concentrée, apparaît (Elect. 3 et 4, Planche n° LVIII).

Conclusions

La protéine F est donc apparue dans l'hémolymphe de cette portion de papillon qui n'a sûrement pas subi l'action des corps allates. En effet, il est peu probable que les corps allates aient agi et émis l'hormone gonadotrope dans la nymphe avant que la section ne soit faite (le 8e jour). Chez les nymphes témoins qui eurent une vie d'une quinzaine de jours, la protéine F apparaît 24 à 48 heures avant l'émergence (papillons visibles sous la cuticule

RESUME DES RAPPORTS ENTRE PROTEINEMIE, VITELLOGENESE PROTEIQUE ET PHENOMENES ENDOCRINIENS CHEZ LA FEMELLE DE PIERIS BRASSICAE



Légendes

1, 2, 3, 4 : protéines (arcs de précipitation) ; F : protéine femelle ; (-), (+) : diminution, augmentation de concentration de la proteine ; ····· , ···· , ∴ , ⁘ : activité nulle ou très faible, faible, croissante, décroissante de l'ovaire (fixation de la protéine F), des corps allates (C.A.), de la glande prothoracique (G.Pth.) ;

————: déplacement des protéines ;

- - - - - : relations entre la protéine F, les C.A. et l'ovaire.

nymphale). Si la protéine F n'est synthétisée que grâce à l'action des corps allates, celle-ci reprend par conséquent 24 à 48 heures avant l'émergence, mais certainement pas 7 jours avant, comme cela serait nécessaire pour expliquer l'apparition de F chez la portion de papillon. Cette apparition est donc liée plutôt aux phénomènes généraux de la métamorphose, en particulier à l'histogenèse du tissu adipeux, et par conséquent à l'action de la glande prothoracique.

IV - CONCLUSIONS

Chez la Piéride du chou, nous pouvons résumer l'endocrinologie de la vitellogenèse protéique de la manière suivante :

1° - 24 à 48 heures avant l'émergence, apparaît dans l'hémolymphe, grâce à l'action de la glande prothoracique, une protéine F, protéine caractéristique liée au sexe femelle. Elle dériverait, initialement, des protéines prévitellines de l'hémolymphe, protéines qui, normalement, n'y sont plus visibles 2 à 3 jours avant l'émergence.

2° - Cette protéine F déclenche alors l'activité des corps allates qui en contrôlent la synthèse (rétroaction) à partir des protéines prévitellines stockées au niveau du tissu adipeux, qui sont libérées dans l'hémolymphe quand le taux d'ecdysone baisse, et qui ne s'y retrouvent normalement pas, étant aussitôt hydrolysées, tant chez le mâle que chez la femelle. Chez cette dernière seulement, les produits d'hydrolyse se transforment en protéine F, grâce à un mécanisme particulier.

3° - Celle-ci, fabriquée activement pendant les cinq premiers jours de la vie imaginale, est pompée par la gonade pour assurer la vitellogenèse protéique du fait de l'action de l'hormone gonadotrope émise par les corps allates.

V - DISCUSSION

A - LES PROTEINES ET LA REPRODUCTION DES LEPIDOPTERES

1° - Chez Bombyx mori et Lymantria dispar, la vitellogenèse protéique se fait, en l'absence de corps allates et pendant la dernière partie de la nymphose, à partir de protéines banales abondantes dans l'hémolymphe de la nymphe et son tissu adipeux. La gonade se comporte alors comme un consommateur de protéines accumulées dans le tissu adipeux pendant la vie larvaire du fait de l'action stimulante de l'ecdysone. En fin de vie nymphale, alors que les phénomènes préparatoires à la métamorphose s'amorcent, le taux d'ecdysone diminuant, les protéines libérées sont utilisées par la gonade. Finalement, lorsque la vitellogenèse protéique est achevée, le tissu adipeux a complètement disparu. La survie de l'adulte sera de courte durée.

2° - Chez Hyalophora cecropia, Lépidoptère se comportant du point de vue de la vitellogenèse, comme Bombyx mori et Lymantria dispar, H. TELFER (1954) met en évidence un antigène n° 7, apparaissant chez mâle et femelle après le filage, mais dix fois plus concentré chez celle-ci. Cette protéine particulière s'accumule dans l'hémolymphe des femelles ovariectomisées ; elle est très concentrée dans l'oeuf. Le moment d'apparition (après le filage) de cette protéine, indique clairement, tant chez le mâle que chez la femelle, que sa synthèse n'est pas sous contrôle des corps allates, mais liée aux phénomènes généraux du développement biologique. En effet, chaque stade peut voir l'apparition ou la disparition d'une ou plusieurs fractions protéiques de l'hémolymphe. Une telle protéine qui, pourtant, est une protéine vitellogénétique typique, ne peut, à notre avis, être appelée "protéine femelle".

3° - Nous voyons donc, chez les Lépidoptères, se manifester l'évolution suivante :

a - au cours du cycle biologique, un nombre de plus en plus grand de protéines est décelable dans l'hémolymphe. Ce sont des "protéines banales" semblant liées à l'évolution somatique car apparaissant à un moment précis. Chez le Ver à soie et la Spongieuse, un grand nombre de ces protéines est fixé par l'o-

vaire ;

b - chez Hyalophora cecropia, la vitellogenèse protéique manifeste normalement une préférence pour une "protéine banale" particulière car plus abondante chez la femelle que chez le mâle, mais peut se réaliser également chez le mâle en utilisant les autres protéines disponibles ;

c - enfin, chez Pieris brassicae, un peu avant l'émergence apparaît dans l'hémolymphe une protéine particulière, "banale" par le fait qu'elle ne devient visible qu'à un moment bien précis du cycle biologique, mais "sexualisée" car caractéristique du sexe femelle et inexistante chez le mâle. Cette protéine femelle préférentiellement fixée par l'ovaire, déclenche l'activité des corps allates qui stimulent sa synthèse. Ceux-ci prennent donc le relais d'une synthèse protéique somatique déjà amorcée, ce qui constitue un maillon supplémentaire dans la chaîne de la vitellogenèse protéique par rapport à celle des Lépidoptères précédemment cités. Il n'en n'est pas moins vrai que cet ovaire peut utiliser, en faible quantité, d'autres protéines que la protéine femelle (F), et que la vitellogenèse a pu être obtenue en milieu mâle (A. KARLINSKY - 1967).

Chez ces Lépidoptères, le tissu adipeux se comporte de la même manière : il stocke, pendant la vie larvaire, des protéines qui seront utilisées par l'ovaire soit telles quelles (Bombyx, Lymantria, Hyalophora), soit après transformation (Pieris). Chez la Piéride en effet, l'alimentation à l'état adulte n'est pas indispensable à la réalisation de la vitellogenèse, ce qui vient confirmer notre idée d'une protéine F synthétisée à partir des protéines préexistantes d'origine adipeuse.

B - LES PROTEINES ET LA REPRODUCTION DES INSECTES

Le mécanisme de la formation du vitellus chez les Insectes a fait l'objet d'une mise au point de H. TELFER (1965), les protéines étant étudiées plus spécialement par P. S. CHEN (1966). Enfin, K. C. HIGHNAM (1964), J. J. BOUNHIOL (1967),

P. CASSIER (1967) puis F. ENGELMANN (1968) font un tour d'horizon complet des contrôles endocriniens au cours de la reproduction des Insectes.

De l'étude des protéines au cours du cycle de la reproduction de divers Insectes, nous retiendrons les faits suivants :

1° - Les protéines de l'hémolymphe participent à la formation du vitellus protéique, ce qui se manifeste par une variation de concentration des protéines et par le fait que l'ovariectomie entraîne une augmentation de ces protéines dans l'hémolymphe par suite de leur non utilisation.

Ceci est mis en évidence chez les Lépidoptères étudiés (Hyalophora cecropia et Celerio euphorbiae) par H. TELFER (1953) et M. J. PIECHOWSKA (1965). Des résultats semblables sont obtenus chez Schistocerca (L. HILL - 1962), Calliphora (J. STRANGWAY-DIXON - 1962), Periplaneta (M. MENON - 1963 ; K. K. THOMAS et J. L. NATION - 1966 a ; K. G. ADIYODI et K. K. NAYAR - 1966), Phormia (C. W. M. ORR - 1964), Pyrrochoris (K. SLAMA - 1964), Rhodnius (G. C. COLES - 1964-1965), Tenebrio (W. MORDUE - 1965), Locusta (A. K. MINKS - 1965 ; S. S. TOBE et B. G. LOUGHTON - 1967), Leucophaea (F. ENGELMANN et D. PENNEY - 1966).

Remarque : Lorsque les protéines de l'hémolymphe sont fixées directement par l'ovaire, les protéines solubles de l'oeuf leur sont semblables. Il n'en est pas de même chez Triotoma (P. L. G. BENOIT et M. VAN SANDE - 1959), Culex (V. ZAMAN et W. TCHELLAPPAH - 1963) et Phormia (H. LAUFER - 1963).

2° - Les protéines sont synthétisées par le tissu adipeux de Bombyx (H. SHIGEMATSU - 1958-1960), Hyalophora et Samia (H. LAUFER - 1960), Schistocerca (L. HILL - 1963-1965 ; D. J. OSBORNE et Coll. - 1968), Rhodnius (G. C. COLES - 1965 a), Sarcophaga (R. R. ALLEN - 1965), Calliphora (G. M. PRICE et T. BOSMAN - 1966), Phormia (P. S. CHEN et L. LEVENBOOK - 1966) et Musca (R. BODNARIK et P. E. MORRISON - 1968), à moins qu'elles n'y

soient seulement séquestrées (M. LOCKE et J. V. COLLINS - 1966-1968 ; J. V. COLLINS - 1967).

Les deux protéines vitellogénétiques de Rhodnius (G. C. COLES - 1965 a) et la protéine femelle de Musca (R. BODNARIK et P. E. MORRISON - 1968) sont incontestablement d'origine adipeuse. Celles du Moustique Aedes aegypti seraient, selon T. F. ROTH et K. R. PORTER (1964), synthétisées par le tube digestif.

La participation du tissu adipeux à la réalisation d'une vitellogenèse in vitro, a été bien mise en évidence par A. M. LAVERDURE (1967), Th. LENDER et A. M. LAVERDURE (1967). Par addition au milieu de culture, d'extrait total de tissu adipeux (et de glucose), ces auteurs obtiennent la vitellogenèse chez Tenebrio molitor. Une telle possibilité est également envisagée pour Calliphora et Lucilia par O. I. SOLODOVNIKOVA (1967), de même que pour la reine du Termite Calotermes flavicolis, par I. D. GHARAGOZLOU (1965).

3° - Les protéines vitellogénétiques sont généralement présentes chez les mâles, en faible quantité il est vrai, exception faite pour Leucophaea (F. ENGELMANN et D. PENNEY - 1966) et Locusta (A. K. MINKS - 1965 ; S. S. TOBE et B. G. LOUGHTON - 1967). Il en est de même de la protéine n° 4 de la femelle adulte de Musca domestica (R. BODNARIK et P. E. MORRISON - 1968), bien que celle-ci ne se trouve pas dans l'oeuf. Chez Tenebrio, A. M. LAVERDURE (1968) met en évidence une fraction n° 13 présente dans l'hémolymphe de la femelle adulte mais pas dans celle du mâle, bien que décelable dans les broyats de testicule et de tissu adipeux (de mâle et de femelle).

Ces protéines, qu'elles soient ou non présentes chez le mâle, sont vitellogénétiques chez la femelle, et leur synthèse par le tissu adipeux (ou un autre organe) est contrôlée par l'activité des corps allates. Ceci a été très bien démontré pour Rhodnius (G. C. COLES - 1955 ; J. P. VANDENBERG - 1965), Leucophaea

(E. ENGELMANN et D. PENNEY - 1966), par les techniques électrophorétiques et immunologiques, et pour Periplaneta (M. MENON - 1963 ; K. K. THOMAS et J. L. NATION - 1966) et Locusta (A. K. MINKS - 1965) par les seules techniques électrophorétiques. Pour ce dernier Insecte, S. LAUVERJAT (1967) met de plus en évidence par les techniques histologiques, un "dimorphisme sexuel des cellules adipeuses" lié à l'activité des corps allates.

Par incubation de tissu adipeux de Leucophaea avec de l'analine marquée et en présence ou non des corps cardiaques (C. C.), M. WYSS-HUBER et M. LUSCHER (1966) trouvent que ceux-ci stimulent la synthèse protéique. Puis, expérimentalement, D. L. CHAMBERS et V. J. BROOKES (1967) pour ce même Insecte, M. LUSCHER (1968) pour Nauphoeta, démontrent que la responsabilité de stimuler les synthèses protéiques du tissu adipeux incombent aux corps allates.

C - PLACE DE PIERIS BRASSICAE PARMI LES INSECTES

Nous emprunterons à P. CASSIER (1967) quelques phrases mettant l'accent sur les différences existant entre les Lépidoptères (à vie adulte brève) et les autres Insectes (à vie adulte longue) : "Lorsque les aliments appropriés sont absents, ou présents en quantité insuffisante, les corps allates restent ou deviennent inactifs ce qui, dans ce dernier cas, interrompt la vitellogenèse et provoque la dégénérescence des ovocytes terminaux. Seuls les Insectes à vie imaginale brève échappent à cette règle : les réserves accumulées au cours de la vie larvaire peuvent assurer la ponte. Ainsi, chez certains Lépidoptères, les protéines vitellogénétiques sanguines sont déjà présentes chez la pupe, de sorte que la vitellogenèse est indépendante non seulement de l'alimentation imaginale, mais encore de tout contrôle endocrinien".

Bombyx mori, Lymantria dispar et Hyalophora cecropia correspondent parfaitement aux "certains Lépidoptères" envi-

sagés par l'auteur. Nous allons voir comment on peut classer la Piéride dans le groupe des Lépidoptères, et plus généralement parmi les Insectes. Deux faits retiendront notre attention :

1° - L'alimentation imaginale n'est pas indispensable à la Piéride pour réaliser sa vitellogenèse. Comme nous l'avons indiqué précédemment, pendant la vie larvaire, la Piéride accumule dans son tissu adipeux des protéines qui seront des précurseurs du vitellus protéique. Par conséquent, elle se comporte comme un Insecte à vie imaginale brève.

2° - Les protéines de la larve ou de la nymphe de Pieris brassicae ne sont pas des protéines vitellogénétiques. La vitellogenèse sera sous contrôle endocrinien. La synthèse de la protéine F à partir des précurseurs accumulés dans le tissu adipeux pendant la vie larvaire, se fera sous contrôle des corps allates dont l'activité est elle-même dépendante de cette protéine. La Piéride peut alors être considérée comme un Insecte à vie imaginale longue.

La Piéride du chou, par son tissu adipeux et sa vitellogenèse particulière, se trouve donc à mi-chemin entre les Lépidoptères, à vie imaginale courte, et la grande masse des autres Insectes, à vie imaginale longue.

-=-o-o-o-=-

CONCLUSIONS GENERALES

Le cycle biologique des Lépidoptères est le résultat du fonctionnement harmonieux de plusieurs glandes neuro-endocrines dont l'activité est réglée par un code génétique. Les protéines de l'hémolymphe ne sont, selon le stade considéré, que la conséquence de ces interactions et reflètent bien l'état physiologique de l'animal.

Par l'étude des protéines de l'hémolymphe au cours du cycle biologique normal de plusieurs Lépidoptères, nous avons montré qu'il était possible de substituer à la notion de "cycle biologique" celle de "cycle électrophorétique des protéines de l'hémolymphe". De nombreuses expériences prouvent que cette dernière notion peut être retenue. En effet, aux modifications expérimentales du cycle biologique (tendant soit à l'interrompre, soit à l'accélérer) correspondent des modifications des protéinogrammes de l'hémolymphe (blocage ou accélération) provenant des perturbations humorales et neuro-endocriniennes causées à l'animal.

Les quelques différences existant entre les Lépidoptères étudiés, et parfois même à l'intérieur d'une même espèce, sont la conséquence d'une rétention de soie plus ou moins grande, retentissant finalement sur le fonctionnement endocrinien.

Les glandes neuro-endocrines responsables, après la dernière mue larvaire, des modifications protéiques, sont les ganglions cérébroïdes et la glande prothoracique. Cette dernière en particulier serait responsable, au cours du dernier stade larvaire, de l'accumulation protéique au niveau du tissu adipeux. Sa disparition au cours du stade nymphal (et même son absence au

stade imaginal) amène, au contraire, le tissu adipeux à se vider de ses éléments de réserve. En fait, il faut voir ce mécanisme de charge et décharge protéique de tissu adipeux comme résultant d'une modification de l'équilibre entre stimulines cérébroïdiennes et ecdysone. Cet équilibre ne peut s'instaurer qu'à la suite de la cessation naturelle d'activité des corps allates, lesquels inhibent les synthèses protéiques. Cette inhibition peut être levée par ablation des corps allates avant la dernière mue larvaire, ce qui déclenche une stimulation des synthèses protéiques.

Chez de nombreux Insectes, les corps allates reprennent leur activité après l'émergence et contrôlent le développement de la gonade ; la métamorphose est une véritable "crise pubertaire". Parmi les Lépidoptères, la Piéride du chou appartient à cette catégorie. Les autres Lépidoptères étudiés ont un développement de la gonade indépendant de tout contrôle endocrinien. L'étude de la vitellogenèse protéique nous permet de confirmer cette distinction en deux groupes :

- le premier, comprenant en particulier le Ver à soie et la Spongieuse qui utilisent des protéines banales présentes dans leur hémolymphe ou accumulées dans leur tissu adipeux au cours de la vie larvaire, est caractérisé par une vitellogenèse protéique réalisable en l'absence de tout contrôle endocrinien ;

- le second, avec la Piéride du chou dont l'ovaire utilise essentiellement une protéine propre au sexe femelle -la protéine F- synthétisée à partir de protéines banales stockées dans le tissu adipeux au cours de la vie larvaire, est caractérisé par une vitellogenèse protéique contrôlée par l'activité des corps allates.

Pieris brassicae, par suite du mode de synthèse de la protéine F à partir de protéines adipocytaires préexistantes et sous contrôle des corps allates, se montre intéressante en tant qu'intermédiaire entre les Insectes à vie imaginale courte et ceux à vie imaginale longue.

Si l'on compare les résultats qui nous ont été fournis par l'expérimentation sur trois espèces de Lépidoptères, à ceux obtenus dans d'autres Ordres, les protéines de l'hémolymphe, et en particulier celles utilisées par l'ovaire, nous paraissent traduire une évolution caractéristique des rapports du métabolisme et du système endocrinien, dans le phylum des Insectes : chez les plus primitifs, la vitellogenèse nécessite obligatoirement des protéines particulières propres au stade femelle adulte. A ces protéines spécialisées se substituent des protéines banales présentes dans l'hémolymphe ou le tissu adipeux et utilisables par la gonade soit indirectement, c'est-à-dire après transformation en protéines vitellines spécialisées, soit directement. Cette simplification évolutive s'accompagne d'une plus grande indépendance de la gonade vis-à-vis des glandes endocrines.

--o-O-o--

BIBLIOGRAPHIE

ADIYODI (K. G.) - 1967 - The nature of haemolymph proteins in relation to the ovarian cycle in the viviparous cockroach, *Leucophaea sinuata* - *J. Insect Physiol., (G. B.), 13,* 1189-1195.

ADIYODI (K. G.) et NAYAR (K. K.) - 1966 - Haemolymph proteins and reproduction in *Periplaneta americana* - *Curr. Sci. India, 35,* 23, 587-588.

ADIYODI (K. G.) et NAYAR (K. K.) - 1967 - Haemolymph proteins and reproduction in *Periplaneta americana* - the nature of the conjugated proteins and the effect of cardiac allectomy on protein metabolism - *Biol. Bull. U. S. A., 133,* 2, 271-286.

AGRELL (I. P. S.) et LINDH (N. O.) - 1966 - Changes in basic proteins during the metamorphosis of the fly, *Calliphora erythrocephala* - *Comp. Biochem. Physiol. (G. B.), 19,* 4, 691-698.

AIZAWA (K.) - 1955 - Electrophoresis on filter paper of the blood of silkworm - *Nippon Sanskigaku Zasshi, 24,* 393-397.

AIZAWA (K.) et MURAI (S.) - 1957 - Electrophoresis of the blood of the silkworm *Bombyx mori* on filter paper - *Seibutsu butsuri Kagatu, 4,* 23-26.

AIZAWA (K.) KOBAYASHI (M.) et ABE (F.) - 1960 - Electrophoresis on filter paper of blood proteins of the *"Dauerpupae"* in the silkworm, *Bombyx mori* - *J. Sericult. Sci. Japan, 29,* 3, 197-202.

AKUNE (S.) et FUKUNGA (T.) - 1959 - Proteins of silkworms - *Kagoshima Daigaku Nôgakubu Gakujutsu Hôkoku 8,* 113-118.

ALIEVA (M. I.) et FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1967 - Changes in amino-acid composition of hemolymph protein fractions during cocoon spinning and metamorphosis of the silkworm, *Bombyx mori* - *Nauch. Dokl. Biol. Nauki S. S. S. R., 10,* 44-47.

ALIEVA (M. I.) et FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1968 - Changes in amino-acid composition of hemolymph protein fractions during cocoon spinning and metamorphosis of the silkworm, *Bombyx mori* - *Nauch. Dokl. Biol. Nauki S. S. S. R., 3,* 53-57.

ALLEGRET (P.) - 1955 - Variation de l'azote total du sang de *Bombyx mori L.* en fonction du sexe pendant la fin de la vie larvaire. Conséquences relatives à l'origine de la soie - *C. R. Acad. Sci. PARIS, 241,* 518-520.

ALLEN (R. R.) - 1965 - Protein synthesis in *Sarcophaga bullata* - *Dissert. Abst. U. S. A., 25,* 2, 4936.

AMANIEU (M.) - 1955 - Recherches sur les relations entre l'évacuation de la soie et l'accomplissement de la métamorphose chez les Lépidoptères - *Bull. Soc. Hist. Nat. TOULOUSE, 90,* 257-286.

ANDERSON (J. M.) - 1948 - Changes in the distribution of nitrogen in the jamanese beetle *(Popillia Japonica Newman)* during metamorphosis - *Physiol. Zool, 21,* 237-252.

ARONSON (T.) et GRONWALL (A.) - 1957 - Improved separation of serum proteins in paper electrophoresis. A new electrophoresis buffer - *Scand. J. Clin Lab. Invest., 9,* 4, 338-341.

BALACHOWSKY (A.) et MESNIL (L.) - 1935 - *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leurs moeurs, leur destruction* - BUSSON, éditeur, PARIS.

BARLOW (J. S.) - 1962a - Electrophoresis of insect hemolymph on starch gel : effects of pH and buffer - *Analytical biochemistry, 3,* 206-211.

BARLOW (J. S.) - 1962b - An effect of parasitism on hemolymph electrophoregrams - *J. Insect Pathol. U. S. A., 4,* 2, 274-275.

BARRY (C.) - 1965 - Hemolymph proteins in the molting cycle of insects - *Dissert. Abstr. U. S. A., 25,* 11, 6515-6516.

BAUD (L. M.) - 1967 - *Contribution à l'étude physiologique du jeûne chez un insecte (Bombyx mori L.)* - Thèse Doc. Sci. Nat. LYON.

BAUD (L. M.) --1967 - (Paru 1968) - Utilisation du glycogène au cours du jeûne chez le Lépidoptère *Bombyx mori L.* - *C. R. Soc. Biol. Fr., 161,* 8-9, 1748-1750.

BAUD (L.) LEGAY (J. M.) et PASCAL (M.) - 1965 - Evolution de la teneur en eau de la larve de *Bombyx mori* L. au cours du jeûne absolu - *Bull. Soc. Fr. Belg.*, *99*, 4, 525-533.

BEADLE (L. C.) et SHAW (J.) - 1950 - The retention of salt and the regulation of the non-protein nitrogen fraction in the blood of the aquatic larva *Sialis lutaria* - *J. exp. Biol.*, *27*, 96-109.

BENNETT (G.) SHOTWELL (O. L.) HALL (H. H.) et HEARN (W. R.) - 1968 - Hemolymph proteins of healthy and diseased larvae of the Japanese beetle, *Popillia japonica* - *J. Invertebr. Pathol.*, *11*, 1, 112-118.

BENOIT (P. L. G.) et VAN SANDE (M.) - 1959 - Etude des proteines de l'hémolymphe de *Triotoma infestans* et *Rhodnius prolixus* par ultra micro-électrophorèse en gel de gélose - *Ann. Soc. Belge med. Trop.*, *39*, 135-143.

BENTON (A. W.) et PATTON (R. L.) - 1965 - A qualitative analysis of the proteins in the venom of honey bees - *J. Insect Physiol (G. B.)*, *11*, 1359-1364.

BERRY (S. J.) - 1966 - Nucleic acid and protein synthesis in saturnid pupae - *Dissert Abstr. B. U. S. A.*, *27*, 1, 40-41.

BERRY (S. J.) KRISHNAKUMARAN (A.) et SCHNEIDERMAN (H. A.) - 1964 - Control of synthesis of RNA in diapausing and injured pupae - *Science*, *146*, 938-940.

BISHOP (G. H.) BRIGGS (A. P.) et RONZONI (E.) - 1925 - Body fluids of the honey bee larva, II - Chemical constituents of the blood and their osmotic effects - *J. Biol. Chem.*, *66*, 77-88.

BITO (S.) - 1927 - *Nippon Nôgei kagaku Kaishi*, *3*, 487-499. in G. R. WYATT 1961.

BLOCK (Q. J.) et DURRUM (E. L.) et ZWEIG (G.) - 1956 - *A manual of paper chromatography and paper electrophoresis* - New-York Academic Press.

BODNARYK (R. P.) et MORRISON (P. E.) - 1966 - The relationship between nutrition haemolymph proteins and ovarian development in *Musca domestica L* - *J. Insect Physiol.*, *13*, 963-976.

BODNARYK (R. P.) et MORRISON (P. E.) - 1968 - Immunochemical analysis of the origin of a sex-specific accumulated blood protein in female houseflies - *J. Insect Physiol. (G. B.)*, *14*, 1141-1146.

BOUNHIOL (J. J.) - 1938 - Trois insectes qui ont bien mérité de la science. L'élevage en laboratoire de *Bombyx mori*, *Lymantria dispar*, *Galleria mellonella* - *Rev. Zool. Agric. et Appl. BORDEAUX* - 48 p.

BOUNHIOL (J. J.) - 1938 - Recherches expérimentales sur le déterminisme de la métamorphose chez les Lépidoptères - *Bull. Fr. Belg. suppl. 24*, 200 p. et Thèse PARIS.

BOUNHIOL (J. J.) - 1942 - L'ablation des Corps allates au dernier âge larvaire n'affecte pas la reproduction chez *Bombyx mori* - *C. R. Acad. Sc. Fr.*, *215*, 234-236.

BOUNHIOL (J. J.) - 1943 - Nymphose partielle, localisée chez des Vers à soie, divisés en trois parties par deux ligatures - *C. R. Acad. Sci. Fr.*, *217*, 203-204.

BOUNHIOL (J. J.) - 1945 - Destin indépendant lors de la nymphose de trois parties formées dans un Ver à soie par deux ligatures plus ou moins espacées - *C. R. Soc. Biol.*, *139*, 842-844.

BOUNHIOL (J. J.) - 1967 - Aperçu des mécanismes neuro-endocriniens contrôlant la reproduction chez les insectes - *Rev. Eur. Endocr.*, *4*, 3, 235-266.

BOWEN (F. J.) et KIRBY (B. A.) - 1953 - Electrophoresis of locust haemolymph - *Arch. inst. Physiol.*, *61*, 3, 413-416.

BOYD (J. B.) - 1966 - Turnover of the hemolymph proteins of *Drosophila melanogaster*. A new method for the detection of deoxyribonucleases and its application to studies of *Drosophila melanogaster* - *Diss. Abstr.*, *26*, 8, 42-43.

BOYD (J. B.) et MITCHELL (H. K.) - 1966 - Turnover of the hemolymph proteins of *Drosophila melanogaster* - *Arch. Biochem. Biophys. U. S. A.*, *117*, 310-319.

BRACKENBRIDGE (C. J.) - 1960 - Optical fractionation conditions for the quantitative analysis of human serum protein fractions by cellulose acetate electrophoresis - *Anal. Chem.*, *32*, 1357-1359.

BRAUNITZER (G.) et BRAUN (V.) - 1965 - Zur Phylogenie des Hämoglobinmoleküls Unterschungen an Insekten-Hämoglobinen (*Rhodnius thumi*) - *Z. (Hoppe Seylers) Physiol. Chem. Dtsch*, 340, 1-2, 88-91.

BRETTSCHNEIDEROVA (Z.) - 1966 - Changes in haemolymph protein concentration in the course of penultimate and the last larval instar of *Pyrrhocoris apterus L* - *Acta ent. bohemoslov.*, *63*, 4, 255-257.

BRETTSCHNEIDEROVA (Z.) et NOVAK (V. J. A.) - 1965 - The effect of the juvenile hormone on the protein level in the haemolymphe of the bug *Pyrrhocoris apterus* during metamorphosis - *Zool. Jb. Physiol. Bd.*, *71*, 8, 665-668.

BREZNER (J.) - 1960 - Serum proteins as an indication of species specificity in larval *Curculio* - *Missouri Univ. Agr. Expt. Sta. Research Bull.*, *725*, 27 p.

BREZNER (I.) et ENNS (W. R.) - 1958 - Preliminary studies utilizing electrophoresis as a tool in insect systematics - *J. Kansas Entomol. Soc.*, *31*, 241-246.

BRUNNERT (H.) - 1967 - Veränderungen im Spektrum der Hämolympheproteine bei Weibchen und Arbeiterinnen der Waldameise *Formica polyctena* Först. während der Metamorphose - *Z. Naturforsch. B. Dtsch.*, *22*, 3, 336-339.

BUCK (J. B.) - 1953 - Physical properties and chemical composition of insect blood - The internal environnement in regulation and metamorphosis - p. 147-217 . *In Insect Physiology K. D. ROEDER, (NEW-YORK, LONDON)*

BURDETTE (W. J.) - 1961 - Changes in titer of ecdysone in *Bombyx mori* during metamorphosis - *Science*, *135*, 432.

BUTTERWORTH (F. M) et BODENSTEIN (D.) - 1967 - Adipose tissue of *Drosophila melanogaster* II - The effect of the adult internal environment on growth, protein deposition and histolysis in the larval fat body - *J. Exp. Zool.*, *164*, *2*, 251-265.

CASSIER (P.) - 1967 - La reproduction des insectes et la régulation de l'activité des corps allates - *Année Biologique Fr.*, *6*, 11-12, 595-670.

CAVALLIN (S.) - 1961 - *Emploi d'une méthode d'alimentation forcée chez le Ver à soie. Son application à l'étude des facteurs initiateurs de la métamorphose* - Thèse Dr. Biol. An. (3e cycle).

CHAI (C. H.) - 1963 - Soluble protéine of *Samia ricini* - *Acta Entomol. Sinica*, *12*, 5-6, 543-551.

CHAI (C. H.) - 1964 - Studies on the protein metabolism in the hemolymphe of *Philosamia cynthia ricini* - *Acta Entomol. Sinica*, *13*, 4, 484-493.

CHAMBERS (D. L.) et BROOKES (V. J.) - 1967 - Hormonal control of reproduction - I - Initiation of oöcyte development in the isolated abdomen of *Leucophaea maderae* - *J. Insect Physiol. (G. B.)*, *13*, 99-111.

CHAUVIN (R.) - 1949 - 1956 - *Physiologie de l'Insecte* - I. N. R. A. PARIS.

CHEFURKA (W.) - 1953 - *Biochemical studies on the blood of the giant Silkworm, Platysamia cecropia* - Doctoral Thesis, Harward Univ., CAMBRIDGE, Mass. in C. R. WYATT (1960).

CHEN (P. S.) - 1956 - Elektrophoretische Bestimmung des Proteingehaltes im Blut normaler und letaler Larven von *Drosophila melanogaster* - *Rev. Suisse Zool.*, *63*, 216-229.

CHEN (P. S.) - 1959a - Trennung der Blutproteine von *Drosophila* und *Culex* Larven mittels Stärke-gel-Electrophorese - *Rev. Suisse Zool.*, *66*, 280-289.

CHEN (P. S.) - 1959b - Studies on the protein metabolism of *Culex pipiens* L. III - A comparative analysis of the protein contents in the larval haemolymph of autogenous and anautogenous forms - *J. Insect Physiol. (G. B.)*, *3*, 335-344.

CHEN (P. S.) - 1960 - Changes in amino-acids and proteins during larval development of *Drosophila and Culex* - In *"XI internation. Kongr. Entomol. III Symp. 3 Chem. Insekten WIEN" Pavia Ist. Entomol.* 201-207.

CHEN (P. S.) - 1966 - Amino-acid and protein metabolism in insect development - *Adv. Insect. Physiol.*, *3*, 55-130.

CHEN (P. S.) - 1967 - Electrophoretic patterns of Larval haemolymph-proteins in autogenous and anautogenous forms of *Culex pipiens* L.- *Nature (G. B.), 215*, 5098, 316-317.

CHEN (P. S.) et LEVENBOOK (L.) - 1966 - Studies on the haemolymph proteins of the blowfly *Phormia regina* - I - Changes in ontogenetic patterns - *J. Insect Physiol (G. B.) 12*, 1595-1609.

CHEN (P. S.) et LEVENBOOK (L.) - 1966 - Studies on the haemolymph proteins of the blowfly *Phormia regina* - II - Synthesis and breakdown as revealed by isotopic labelling - *J. Insect Physiol. (G. B.), 12*, 1611-1627.

CHEN (P. S.) et WEIDELI (H.) - 1968 - Free ninhydrin-positive components and proteins in the hemolymph of *Drosophila* larvae infected by *Pseudeucoila bochei* Weld - *Drosophila Inform. Serv. U. S. A., 43*, 113.

CHENG (W. K.) et TANG (P. S.) - 1947 - Changes in the nitrogen contents in the silk glands during spinning and in the body during metamorphosis in *Bombyx mori* - *Science Record. (China), 2*, 122-128.

CHIPPENDALE (G. M.) et BECK (S. T.) - 1966 - Haemolymph proteins of *Ostrinia nubilalis* during diapause and prepupal differentiation - *J. Insect Physiol. (G. B.), 12*, 1629-1638.

CHIPPENDALE (G. M.) et BECK (S. I.) - 1967 - Fat body proteins of *Ostrinia nubilalis* during diapause and prepupal differentiation - *J. Insect Physiol. (G. B.), 13*, 995-1006.

CLARET (J.) - 1966 - Mise en évidence du rôle photorécepteur du cerveau dans l'induction de la diapause, chez *Pieris brassicae* (Lépido.) - *Annales d'endocrinol. PARIS, 27*, 3 bis suppl. 311-320.

CLARET (J.) - 1968 - Modifications physiologiques provoquées par la photopériode pendant la prédiapause chez la chenille de *Pieris brassicae* L. - *C. R. Acad. Sci. D, Fr., 266*, 11, 1156-1159.

CLARK (E. W.) et BALL (G. H.) - 1956 - Preliminary microelectrophoresis studies of insects proteins - *Physiol. Zool. U. S. A., 29*, 3, 206-212.

CLARKE (J. T.) - 1964 - Simplified "Disc" (Polyacrylamide gel) electrophoresis - *Ann. N. Y. Acad. Sci., 121*, 428-436.

CLARKE (K. V.) et GILLOT (C.) - 1967 - Studies on the effect of the removal of the frontal ganglion in *Locusta migratoria* L. I - The effect on protein metabolism - *J. Exp. Biol., 46*, 1, 13-25.

CLEMENTS (A. N.) - 1967 - A Study of soluble esterase in *Pieris brassicae* (Lepidoptera) - *J. Insect Physiol. (G. B.), 13*, 1021-1030.

COLES (G. C.) - 1964 - Some effects od decapitation on metabolism in *Rhodnius prolixus* Stäl. - *Nature (G. B.), 203*, 4942, 323.

COLES (G. C.) - 1965 - Haemolymph proteins and yolk formation in *Rhodnius prolixus St.* - *J. Exp. Biol., 43*, 425-431.

COLES (G. C.) - 1965 - The haemolymph and moulting in *Rhodnius prolixus St.* - *J. Insect Physiol. (G. B.), 11*, 1310-1323.

COLES (G. C.) - 1965 - Studies on the hormonal control of metabolism in *Rhodnius prolixus St.* - I - The adult female - *J. Insect Physiol. (G. B.), 11*, 1325-1330.

COLLINS (J. V.) - 1967 - The formation of protein granules in the fat body of an insect, *Colpodes ethlius St.*, Lepidoptera, Hesperiidae - *Dissert. Abstr. B., 28*, 6, 2269-2270.

CRAIG (R.) et HOSKINS (W. M.) - 1940 - Insect biochemistry - *Ann. Rev. Biochem.* - 2, 617-640.

CROWLE (A. J.) - 1961 - *"Immunodiffusion"* - Acad. Press NEW-YORK.

DAVID (W. A. L.) - 1957 - Breeding *Pieris brassicae* L. and *Apanteles glomeratus L.* as experimental insects - *Z. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 64*, 572-577.

DAVID (W. A. L.) - 1962 - *Pieris brassicae* and its granulosis virus disease - (1960) - *Verhandl. 11 th. Intern. Kong. Entomol. WIEN, 2*, 777-780.

DAVID (W. A. L.) - 1965 - Observations on cultures of *Pieris brassicae L.* susceptible and resistant to granulosis virus disease - (1964) - *Proc. 12 th Intern. Kong. Entomol. LONDON*, 744-745.

DAVID (W. A. L.) - 1965 - The granulosis virus of *Pieris brassicae L.* in relation to natural limitation and biological control - *Ann. Appl. Biol., 56,* 33 ⊢ 334.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1952 - Laboratory breeding of *Pieris brassicae L.* and *Apantele glomeratus* L. - *Proc. Roy. Entomol. Soc. LONDON, 27,* 54-56.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1960 - A *Pieris brassicae (Linnaeus)* culture resistant to a granulosis - J. Insect Pathol., 2, 106- 114.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1965 - Rearing *Pieris brassicae L.* larvae on a semi-synthetic diet - *Nature (G. B.), 207,* 882-883.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1965 - The incidence of granulosis deaths in susceptible and resistant *Pieris brassicae L.* larvae following changes of population density, food and temperature - *J. Invert. Pathol., 7,* 347-355.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1965 - Resistance of *Pieris brassicae (Linnaeus)* to granulosis virus and the virulence of the virus from different host races - *J. Invert. Pathol., 7,* 285-290.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1966 - Rearing *Pieris brassicae L.*on semi-synthetic diets with and without cabbage - *Bull. Entomol. Res., 56,* 58 ⊢ 593.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1966 - Breeding *Pieris brassicae* apparently free from granulosis virus - *J. Invert. Pathol. U. S. A., 8,* 3, 325-333.

DAVID (W. A. L.) et GARDINER (B. O. C.) - 1966 - Mustar oil glucosides as feeding stimulants for *Pieris brassicae* larvae in a semi-synthetic diet - *Ent. Exp. appl. PAYS-BAS, 9,* 247-255.

DAVIS (B. J.) - 1962 - *"Disc Electrophoresis - Part II - Materials and methods"* - Distillation Products Industries ROCHESTER.

DEJ MAL (R. K.) et BROOKES (V. J.) - 1968 - Solubility and electrophoretic properties of ovarial protein of the cockroach *Leucophaea maderae* - *J. Insect Physiol. (G. B.), 14,* 37 ⊢ 38 1.

DELPLANQUE (A.) et PONSARDIN (R.) - L'élevage permanent d'*Antheraea pernyi" Guer.*Lépidoptère "Saturnidae"

DELVECCHIO (R. J.) - 1955 - Changes in the distribution of nitrogen during growth and metamorphosis of the housefly, *Musca domestica (Linnaeus)* - *J. N. Y. Ent. Soc., 63,* 14 ⊢ 152.

DE MJANOVSKIJ (S. J. A.) et FILIPPOVICH (Ju. B.) - 1950 — Rapports des protéides et des acides aminés de l'hémolymphe avec la synthèse des protéides de la soie dans l'organisme de *Antheraea pernyi G* - *Biokhimiya S. S. S. R., 15,* 5, 437-443.

DE MOLIN (G.) - 1963 - Les "miroirs" urticants de la Processionnaire du Pin *(Thaumetopea pityocampa Schiff.* *Rev. Zool. Agric. BORDEAUX, 10-12,* 107- 114.

DE M'YANOVSKAYA (N. S.) et SOKOL'SKAYA (A. V.) - 1943-- Changes in the water, dry substance and total nitrogen content of the silkworm, *Antheraea pernyi G.* during development - *Biokhimiya S. S. S. R., 8,* 77-84.

DENUCE (J. M.) - 1955 - Papier-Electrophorese der Haemolymphe-Protein in Melanine-vorming bij Insecten - *Protides of the biological fluids, Proceeding of the III th Colloquium, BRUGES, Elsevier, AMSTERDAM,* 13 ⊢ 134.

DENUCE (J. M.) - 1955- 1956 - Microélectrophorèse des protéines de l'hémolymphe des larves de *Galleria mellonella* - *Ann. Soc. R. Zool. Belg., 86, 1,* 15 ⊢ 156.

DENUCE (J. M.) - 1956 - Mise en évidence des groupements sulfhydriles liés aux protéines de l'hémolymphe larvaire de la fausse teigne (*Galleria mellonella) - Arch. Intern. Physiol. Biochim. Belg., 64,* 3, 532-533.

DENUCE (J. M.) - 1957 - Uber die Trennung von Hämolymphe-proteinen mittels einer modifizierten-Starke - Elektrophorese- Methode - *Z. Naturforsch, 12b,* 434-436.

DENUCE (J. M.) - 1958a - Zonenelektrophoretische Untersuchungen der Hämolymphe-Proteine von Insekten in verschiedenen Stadium der Larvenentwicklung - *Z. Naturforsch, 13b,* 2 15-2 18.

DENUCE (J. M.) - 1958b - Die Hämolymphe-Proteine Einiger Insectenarten im Laufe der Larvenentwicklung (Stärkegel-Elektrophorese)-*Protides of the biological fluids. Proceeding of the VI th Colloquium - BRUGES - Elsevier- AMSTERDAM*, 49-52.

DENUCE (J. M.) - 1959 - Séparation électrophorétique en gel d'amidon des protéines de l'hémolymphe larvaire d'insectes - *Arch. intern. Physiol. Biochim. Belg, 67,* 109-110.

DENUCE (J. M.) et RABAEY (M.) - 1957 - De scheidung van haemolympheproteinen door ultramicroelectrophorese op agar - *Protides of the biological fluids. Proceeding of the V th Colloquium BRUGES. Elsevier AMSTERDAM,* 154-158.

DENUCE (J. M.) et RABAEY (M.) - 1957 - Uber die Trennung von Hämolymphe-Proteinen mittels ultra-mikroelektrophorese. auf agar - *Clin. Chim. Acta, 2,* 517-521.

DITTMER (A.) - 1956 - *Papierelektrophorese* - Gustav Fischer - JENA.

DJAJAKUSUMAH (I.) et MILES (P. W.) - 1966 - Changes in the relative amounts of soluble protein and amino-acid in the haemolymph of the locust, *Chortoicetes terminifera Walker* (Orthoptera : Acrididae) in relation to hydratation and subsequent hydratation - *Austr. J. Biol. Sci., 19,* 6, 1081-1094.

DRILHON (A.) - 1954 - Etude électrophorétique des protéines de l'hémolymphe du *Bombyx mori,* au cours de son cycle de croissance - *C. R. Acad. Sci. Fr., 238,* 2452-2454.

DRILHON (A.) - 1959 - Etude par électrophorèse du sang des chenilles de *"Macrothylacea rubi L."* en repos hivernal - *Colloque sur les Métamorphoses. PERIGUEUX. Actes Soc. Linnéenne BORDEAUX,* 67-75

DRILHON (A.) et FLORENCE (G.) - 1945 - Compléments à l'étude biochimique et physiologique du sang des Lépidoptères - *Bull. Soc. Chim. Biol., 1-3,* 160-167.

DRILHON (A.) et VAGO (C.) - 1960 - Recherches sur le mécanisme d'action de *Bacillus thuringiensis.* Effet de la toxémie sur les fractions protéiques de l'hémolymphe - *Reprinted from Antonie van Leeuwenkoek, 26,* 407-412.

DUCCESCHI (V.) - 1902 - Il sangue del *Bombyx mori* allo state larvale - *Atti Reale Accad. Georgofili Firenze 25,* 365-382.

DUFFY (J. P.) - 1958 - Paper chromotographic and paper electrophoretic studies of the free amino acids and proteins of mosquito species - *Dissert. Abstr, 19,* 1480.

DUKE (E. J.) - 1966a - Comparison of third-instar larval lymph protein content in seven species of *Drosophila* - *Drosophila Inform. Serv. U. S. A.41,* 84-85.

DUKE (E. J.) - 1966b - Lymp protein patterns in the development of *Locusta migratoria migratorioides* - *Comp. Biochem. Physiol., 17,* 661-664.

DUKE (E. J.) et PANTELOURIS (E.) - 1963 - Ontogenesis of lymph proteins in *Drosophila melanogaster* - *Comp. Biochem. Physiol., 10,* 351-355.

EDWARDS (J. S.) et FIORE (C.) - 1966 - Haemolymph hydrolases in metamorphosing *Galleria mellonella* (Lepidoptera) - *Ent. Exp. Appl. PAYS-BAS, 9,* 4, 419-427.

EGELHAAF (A.) - 1966 - Zur Genetik und Physiologik der H"amolymphe - Proteine von *Ephestia K"uhniella* - *Zool. Anz. Dtsch, suppl. 29,* 256-61.

ENGELMANN (F.) - 1965 - Endocrine activation of protein metabolism during egg maturation in an insect - *Amer. Zool., 5,* 4,213.

ENGELMANN (F.) - 1966 - Corpus allatum controlled protein biosynthesis in *Leucophaea maderae* - Symposium de BRNO.

ENGELMANN (F.) - 1968 - Endocrine control of reproduction in insects - *Am. Zool. Entomol. U. S. A., 13,* 1-26.

ENGELMANN (F.) et PENNEY (D.) - 1966 - Studies on the endocrine control of metabolism in *Leucophaea maderae* (Blattaria). I - The hemolymph proteins during egg maturation - *Gen. Comp. Endocrinol., 7,* 314-325.

EVANS (A.C.) - 1932 - Some aspects of chemical changes during insect metamorphosis - *J. Exp. Biol., 9,* 314-321.

EVANS (A. C.) - 1934 - On the chemical changes associated with metamorphosis in a beetle *(Tenebrio molitor L.)* - *J. Exp. Biol., 11*, 397-401.

FABRE (J. H.) - 1899 - La processionnaire du Pin - *Souvenirs entomologiques, 6e série.*

FAULKNER (P.) et NHEEMESQAR (B.) - 1960 - Biosynthesis of proteins in the silkworm *Bombyx mori* - *Biochem. J., 76*, 71-78.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1953 - Interrelation of proteins and amino acids of the hemolymph with the synthesis of silk protein in the organism of the Oack silkworm - *Uchenye Zapiski Moskov, Gsudarst. Pedagog. Inst., 77*, 125-182.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1960 - Changes in tissue protein amino acid composition in the process of oak silkworm development - *Biokhimiya, 25*, 1065-1072.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1960 - Quantitative amino acid content in tisse proteins of *Antheraea pernyi* - *Trudy Kafedry Org. i. Biol. Kimii, Moskov Gosudarst Pedagog. Inst., 10*, 73-91.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et ALIYEVA (M. I.) - 1966 - En Russe : Les fractions protéiques de l'hémolymphe de *Bombyx mori L.* en rapport avec sexe et stades de développement - *Zh. Obshch. Biol. S. S. S. R., 27*, 4, 489-495.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et ALIEVA (M. I.) - 1967 - En Russe : Les protéines de l'hémolymphe de divers espèces de Vers à soie - *Prikl. Biokhim. S. S. S. R., 3*, 2, 192-197.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et KLUNOVA (S. M.) - 1967 -En Russe : Rapport entre la dynamique des acides aminés libres et la biosynthèse des protéines de la soie dans la glande séricigène de *Bombyx mori L.* *Zh. Obshch. Biol. S. S. S. R., 28*, 6, 715-723.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et SHCHEGOLEVA (L. I.) - 1967 - En Russe : Etude des protéines solubles des tissus du Ver à soie *Bombyx mori L.* par la méthode de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide - *Dokl. Akad. Nauk. S. S. S. R., 174*, 1, 240-242.

FINE (J. M.) et WASZCZENKO (E.) - 1958 - Preparation of transparent starch gels after electrophoresis - *Nature (G. B.), 181*, 269.

FIORE (C.) et EDWARDS (J. S.) - 1965 - Changes in hemolymph proteins during development of *Galleria mellonella* - *Biological Research (Western Reserve University)* p. 18.

FLORKIN (M.) - 1935 - Sur la teneur en protéines du plasma sanguin des Insectes - *C. R. Soc. Biol., 118*, 1224-1226.

FLORKIN (M.) - 1936 - Nouvelles données sur la teneur en protéines du plasma sanguin des Insectes - *C. R. Soc. Biol., 123*, 1024-1026.

FLORKIN (M.) - 1937 - Variation dans la composition du plasma sanguin au cours de la métamorphose du Ver à soie - *Arch. intern. physiol., 45*, 17-31.

FLORKIN (M.) - 1937 - La composition du plasma sanguin des insectes adultes - *Arch. intern. physiol., 45*, 6-16.

FLORKIN (M.) - 1937 - Contributions à l'étude du plasma sanguin des insectes - *Mem. Acad. Roy. Belg. (Cl. Sci.), 16*, 1-69.

FLORKIN (M.) - 1959 - The free amino acids of insect hemolymph - in *"Biochemistry of Insects-Proceedings of the IV internat. Congress of Biochem. VIENNA"* Pergamon Press. p. 63-89.

FLORKIN (M.) et DUCHATEAU (G.) - 1943 - Le graphique de précipitation par les phosphates du plasma sanguin d'un insecte *(Hydrophilus piceus)* - *Acta Biol. Belg., 3*, 1-2.

FLORKIN (M.) et GOMEZ (U.) - 1939 - Rapport albumines-globulines du plasma sanguin d'un insecte - *Assoc. Franc. Avanc. Sci. 63e sess.*, p. 684.

FOX (A. S.) et YOON (S. B.) - 1957 - Application of Agar-diffusion techniques to the analysis of *Drosophila* antigens - *Anat. Rec., 128*, 552.

FUKUDA (T.) et FLORKIN (M.) - 1958 - Formation of the silkproteins during the growth of the silkworm larva *(Bombyx mori)* - in *"Biochemistry of insects - Proceeding of the IV th internat. Congress of biochem"*. Pergamon Press, p. 90-99.

EVANS (A. C.) - 1934 - On the chemical changes associated with metamorphosis in a beetle *(Tenebrio molitor L.)* - *J. Exp. Biol., 11*, 397-401.

FABRE (J. H.) - 1899 - La processionnaire du Pin - *Souvenirs entomologiques, 6e série.*

FAULKNER (P.) et NHEEMESQAR (B.) - 1960 - Biosynthesis of proteins in the silkworm *Bombyx mori* - *Biochem. J., 76*, 71-78.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1953 - Interrelation of proteins and amino acids of the hemolymph with the synthesis of silk protein in the organism of the Oack silkworm - *Uchenye Zapiski Moskov, Gsudarst. Pedagog. Inst., 77*, 125-182.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1960 - Changes in tissue protein amino acid composition in the process of oak silkworm development - *Biokhimiya, 25*, 1065-1072.

FILIPPOVICH (Yu. B.) - 1960 - Quantitative amino acid content in tisse proteins of *Antheraea pernyi* - *Trudy Kafedry Org. i. Biol. Kimii, Moskov Gosudarst Pedagog. Inst., 10*, 73-91.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et ALIYEVA (M. I.) - 1966 - En Russe : Les fractions protéiques de l'hémolymphe de *Bombyx mori L.* en rapport avec sexe et stades de développement - *Zh. Obshch. Biol. S. S. S. R., 27*, 4, 489-495.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et ALIEVA (M. I.) - 1967 - En Russe : Les protéines de l'hémolymphe de divers espèces de Vers à soie - *Prikl. Biokhim. S. S. S. R., 3*, 2, 192-197.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et KLUNOVA (S. M.) - 1967 -En Russe : Rapport entre la dynamique des acides aminés libres et la biosynthèse des protéines de la soie dans la glande séricigène de *Bombyx mori L. Zh. Obshch. Biol. S. S. S. R., 28*, 6, 715-723.

FILIPPOVICH (Yu. B.) et SHCHEGOLEVA (L. I.) - 1967 - En Russe : Etude des protéines solubles des tissus du Ver à soie *Bombyx mori L.* par la méthode de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide - *Dokl. Akad. Nauk. S. S. S. R., 174*, 1, 240-242.

FINE (J. M.) et WASZCZENKO (E.) - 1958 - Preparation of transparent starch gels after electrophoresis - *Nature (G. B.), 181*, 269.

FIORE (C.) et EDWARDS (J. S.) - 1965 - Changes in hemolymph proteins during development of *Galleria mellonella* - *Biological Research (Western Reserve University)* p. 18.

FLORKIN (M.) - 1935 - Sur la teneur en protéines du plasma sanguin des Insectes - *C. R. Soc. Biol., 118*, 1224-1226.

FLORKIN (M.) - 1936 - Nouvelles données sur la teneur en protéines du plasma sanguin des Insectes - *C. R. Soc. Biol., 123*, 1024-1026.

FLORKIN (M.) - 1937 - Variation dans la composition du plasma sanguin au cours de la métamorphose du Ver à soie - *Arch. intern. physiol., 45*, 17-31.

FLORKIN (M.) - 1937 - La composition du plasma sanguin des insectes adultes - *Arch. intern. physiol., 45*, 6-16.

FLORKIN (M.) - 1937 - Contributions à l'étude du plasma sanguin des insectes - *Mem. Acad. Roy. Belg. (Cl. Sci.), 16*, 1-69.

FLORKIN (M.) - 1959 - The free amino acids of insect hemolymph - in *"Biochemistry of Insects-Proceedings of the IV internat. Congress of Biochem. VIENNA"* Pergamon Press. p. 63-89.

FLORKIN (M.) et DUCHATEAU (G.) - 1943 - Le graphique de précipitation par les phosphates du plasma sanguin d'un insecte *(Hydrophilus piceus)* - *Acta Biol. Belg., 3*, 1-2.

FLORKIN (M.) et GOMEZ (U.) - 1939 - Rapport albumines-globulines du plasma sanguin d'un insecte - *Assoc. Franc. Avanc. Sci. 63e sess.*, p. 684.

FOX (A. S.) et YOON (S. B.) - 1957 - Application of Agar-diffusion techniques to the analysis of *Drosophila* antigens - *Anat. Rec., 128*, 552.

FUKUDA (T.) et FLORKIN (M.) - 1958 - Formation of the silkproteins during the growth of the silkworm larva *(Bombyx mori)* - in *"Biochemistry of insects - Proceeding of the IV th internat. Congress of biochem"*. Pergamon Press, p. 90-99.

GERE (G.) - 1964 - Changes of weight, lipid and water content of *Lymantria dispar* L. with special regard to the chemical and energetic changes during insect metamorphosis and imaginal life - *Acta Biol. Acad. Sci. Hungar, 15*, 2, 139-170.

GHARAGOZLOU (I. D.) - 1965 - *Evolution et rôle du tissu adipeux au cours du développement post-embryonnaire de "Calotermes flavicollis"* - Thèse Doct. Sc. Nat. - PARIS.

GILBERT (L. I.) et SCHNEIDERMAN (H. A.) - 1961 - Some biochemical aspects of insect metamorphosis - *Am. Zool., 1*, 11-51.

GILMOUR (D.) 1961 - *Biochemistry of insects* - Academic Press, NEW-YORK, LONDON.

GIRI (K. V.) - 1956 - A simple agar-electrophoresis apparatus and technique - *Naturwiss, 43*, 232-233.

GLICK (B.) et MITLIN (N.) - 1968 - An immunological study of the antigens of *Anthonomus grandis grandis* and *Anthonomus grandis thurberiae* - *Ann. Entomol. Soc. Amer., 61*, 2, 548-550.

GRABAR (P.) et WILLIAMS (C. A.) - 1953 - Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin - *Biochem. Biophys. Acta., 10*, 193-194.

GRABAR (P.) et BURTIN (P.) - 1964 - *Immuno-electrophoretic analysis - Applications to human biological fluid* - Elesevier (AMSTERDAM. LONDON. NEW-YORK).

GRASSE (P. P.) - 1951 - *Traité de Zoologie (Anatomie, systématique, Biologie) tome : IX et X.* - Masson et Cie, éditeurs, PARIS.

GRASSMANN (W.) et HANNIG (K.) - 1950 - Ein einfaches verfahren zur Analyse der Serumproteine und anderer Proteingenische - *Naturwiss, 37*, 496-497.

GRASSMANN (W.) et HANNIG (K.) - 1952 - Ein quantitative Verfahren zur Analyse der Serum proteines durch papier elektrophorese - *Hoppe Seyler's Ztschr. f. Physiol. Chem., 290*, 1-27.

GROULADE (J.) - 1960 - Appareil d'électrophorèse de zone à évaporation limitée - *A. F. A. S. - GRENOBLE - Phys. Biol.*, 162.

GROULADE (J.) - 1961 - *Electrophorèse sur papier (Appareil et technique)* - Imprimerie Allier - GRENOBLE -

GROULADE (J.) LAMY (M.) et BOUNHIOL (J. J.) - 1961 - Modifications de la protéinémie du Ver à soie, *Bombyx mori L.* au cours de son cycle vital. Mise en évidence de nouvelles fractions protéiques - *C. R. Acad. Sci. Fr., 253*, 3112-3114.

GROULADE (J.) et OLLIVIER (C.) - 1960 - Electrophorèse homogène en gel d'amidon suivie de plastification - *Ann. biol. clin., 28*, 10-12, 595-601.

GUKASJAN (A. B.) - 1966 - En Russe : Rôle des microorganismes dans le métabolisme de l'azote chez les chenilles d' *Antheraea pernyi* - in *Mikroorganizrung v bor'bes s vredeteljami les myokho jajstva. Moskva, Izdat. Nauka*, 191-199.

HACKMAN (R. H.) - 1952 - Green pigments of the haemolymph of insects - *Arch. biochem. biophys, 41*, 166-174

HARRISON (B. J.) et HOLLIDAY (R.) - 1967 - Senescence and the fidelity of protein synthesis in *Drosophila* - *Nature (G. B.), 213*, 5080, 990-992.

HART (R. A.) et ENNS (W. R.) - 1960 - Combined effects of buffer flow and electrophoretic migration on insect serum protein patterns - *J. Kansas Entomol. Soc., 33*, 14-22.

HELLER (J.) - 1924 - Sur la transformation des matières albuminoïdes pendant la métamorphose des Lépidoptères *Deilephila euphorbiae* - *C. R. Soc. Biol., 90*, 1360-1361.

HELLER (J.) et MOKLOWSKA (A.) - 1930 - Uber die Zusammensetzung des Raupenblutes dei *Deilephila euphorbiae* und dessen Veränderungen in Verlaufe der Metamorphose. Chemische Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten - *Biochem. Ztsch, 219*, 473-489.

HENRY (S. M.) et COOK (T. W.) - 1963 - Amino acids in protein of black blowfly, *Phormia regina (M.)* at various stages of development - *Contrib. Boy. Thompson Instit. U. S. A., 22*, 3; 133-139.

HIGHNAM (K. C.) - 1964 - *"Insect reproduction"* - Symposia of the Roy. Entomol. Soc. LONDON.

HILL (L.) - 1962 - Neurosecretory control of haemolymph protein concentration during ovarian development in the desert locust - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 8*, 609-619.

HILL (L.) - 1963 - Endocrine control of protein synthesis in female desert locust *(Schistocerca gregaria)* - *J. Endocrin., 26*, 17-18.

HILL (L.) - 1965 - The incorporation of C14 - Glycine into the proteins of the fat body the desert locust during ovarian development - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 11*, 1605-1615.

HIRSCHFELD (J.) - 1960 - Immunoelectrophoresis procedure and application to the study of group specific variation in sera - *Science Tools, 7*, 18-25.

HUBBY (J. L.) - 1963 - Protein differences in *Drosophila* - I - *Drosophila melanogaster* - *Genetics. U. S. 48*, 871-879.

HUBBY (J. L.) et THROCKMORTON (L. H.) - 1965 - Protein differences in *Drosophila* - II - Comparative species genetics and evolutionary problems - *Genetics - U. S. A., 52*, 203-215.

HUDSON (A.) et CAMPBELL (K.) - 1966 - Proteins in the haemolymph and other tissues of the developing tomato hornworm, *Protoparce quinquemaculata Haworth* - *Canad. J. Zool., 44*, 541-555.

INAGAMI (K.) - 1954 - Studies on the proteins of the body fluid in the silkworm. III - On the electrophoretic components of the body fluid proteins - *J. Seric. Sc. Jap., 23*, 5, 304-307.

INAGAMI (K.) - 1955 - Proteins in the body fluid of the silkworm. IV - Globulin nitrogen, albumin nitrogen and the residual nitrogen in the bodv fluids of the silkworm larvae at different rearing seasons - *J. Sericult. Sci. Japan, 24*, 97-99.

INAGAMI (K.) - 1955 - Proteins in the body fluid of the silkworm - V - The relation between the changes of protein contents and the condition of health - *J. Sericult. Sci. Japan, 24*, 99-102.

INAGAMI (K.) et SUDO (Y.) - 1951 - Proteins in the blood of the silkworm - I - Globulin, albumin and residual nitrogen contents in the blood of silkworm - *J. Sericult. Sci. Japan, 20*, 383-384.

INAGAMI (K.) et SUDO (Y.) - 1951 - Proteins in the blood of the silkworm. II - Variation in the globulin albumin, and residual nitrogen contents in the blood with the growth of silkworm - *J. Sericult. Sci. Japan, 20*, 385-386.

INOUE (R.) MIWA (T.) et KITAZAWA (K.) - 1933 - Amino acid composition of the protein of the chrysalis of the domesticated and Tussah silkworm - *Bull. Sericult. Silk. Ind. Japan, 6*, 2, 1-3.

JANDA (V. Jr.) - 1968 - Changes in the glycogen, fat and nitrogen metabolism of *Pyrrhocoris apterus* imagoes in relation to the reproductive processes - *Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tier 74*, 88-101.

JANDA (V. Jr.) SEHNAL (F.) et SIMEK (V.) - 1966 - Changes in some chemical constituents of *Galleria mellonella* larvae in relation to growth and morphogenesis - *Acta Biochim. Polon., 13*, 4, 329-33

JUNNIKKALA (E.) - 1966 - Effect of braconid parasitization on the nitrogen metabolism of *Pieris brassicae* A study of the nitrogenous compounds in the hemolymph of larvae at different ages reared in controlled laboratory condition - *Ann. Acad. Sci. Fenn. A - IV, 100*, 83 p.

KARLINSKY (A.) - 1962 - Effets de l'ablation des corpora allata larvaires sur le développement ovarien de *Pieris brassicae L.* (Lépidoptères) *C. R. Acad. Sci. Fr., 255*, 191-193.

KARLINSKY (A.) - 1963 - Effets de l'ablation des corpora allata imaginaux sur le développement ovarien de *Pieris brassicae L.* (Lépidoptères) - *C. R. Acad. Sci. Fr., 256*, 4101-4103.

KARLINSKY (A.) - 1967 - Reprise de la vitellogénèse après implantation de corpora allata chez *Pieris brassicae L.* (Lépidoptères) - *C. R. Acad. Sci. Fr., 264*, 1735-1738.

KARLINSKY (A.) - 1967 - Corpora allata et vitellogenèse chez les lépidoptères - *Abstr. of papers for the IV th. conference of Europ. Comp. embcr.*

KARLINSKY (A.) - 1967 - Influence des corpora allata sur le fonctionnement ovarien en milieu mâle de *Pieris brassicae L.* (Lepidoptères) - *C. R. Acad. Sci. Fr., 265*, 2040-2042.

KAWASE (S.) et HAYASHI (Y.) - 1965 - Nucleic-acid and protein changes in blood and midgut of the silkworm *Bombyx mori L.* during the course of cytoplasmic polyhedrosis - *C. Inverv. Virol. U. S. A., 7*, 1, 49-54.

KILBY (E. A.) - 1963 - The biochemistry of the insect fat body - *Adv. in Insect. Physiol.* (Acad. Press) p. 143-166.

KOBAYASHI (M.) et KOMATSU (K.) - 1956 - Blood protein of silkworm-I-Variation of blood protein during growth - *Seibutsu, butsuri. Kagaku, 3,* 28-31.

KOHN (J.) - 1960 - *Chromatographic and electrophoretic techniques* - Ed. I. Smith. - LONDON.

KONDO (Y.) - 1959 - The components of body fluids of silkworms - *Tampakushitsu Kakusan Kôso, 4,* 96-103.

KRIEG (A.) - 1956 - Elektrophoretische Untersuchungen an Hämolympheproteinen von Insekten und anderen Avertebrate - *Naturwissenschaften, 43,* 60-61.

LAHARGUE (J.) - 1951 - La glande prothoracique de Toyama chez quelques Lépidoptères. Sa persistance chez les nymphes de la Pieride du chou en hivernage prolongé - *P. V. Soc. Linnéenne BORDEAUX, 95,* 22-27.

LAHARGUE (J.) - 1952 - Elevage complet (de l'oeuf à l'oeuf) de la Pièride du chou en captivité - *P. V. Soc. Linnéenne BORDEAUX, 95,* 61-66.

LAHARGUE (J.) - 1961-1962 - Appareil permettant l'évacuation forcée de la soie élaborée par la chenille de *Bombyx mori.*- *P. V. Soc. Sc. Phys. et Nat. BORDEAUX,* 36-43.

LAMY (M.) - 1961 - *Etude par électrophorèse sur papier des protéines de l'hémolymphe du Bombyx mori au cours de son cycle biologique* - Mém. Diplôme d'Et. Sup. BORDEAUX.

LAMY (M.) - 1964 - *Les variations de la protéinémie du Ver à soie normal ou soumis à diverses expériences. Résultats obtenus par les techniques d'électrophorèse* - Thèse Dr. Biol. An. (3e cycle).

LAMY (M.) - 1964 - Electrophorèse des protéines de l'hémolymphe de la Piéride du chou(*Pieris brassicae*) au cours de son cycle biologique et de sa diapause nymphale - *P. V. Soc. Sc. Phys. et Nat. BORDEAUX,* 241-246.

LAMY (M.) - 1964 - Application des techniques d'électrophorèse à l'étude de l'hémolymphe de la Processionnaire du Pin (*Thaumetopoea pityocampa Schiff*) - *P. V. Soc. Sc. Phys. et Nat. BORDEAUX,* 47-55.

LAMY (M.) - 1964 - Etude par électrophorèse en gel d'amidon des protéines de l'hémolymphe du Bombyx du murier normal ou privé de ses gonades - *C. R. Acad. Sc., Fr., 258,* [illegible]

LAMY (M.) - 1967 - Etude des protéines de l'hémolymphe de la Spongieuse (*Lymantria dispar L.*) par électrophorèse sur papier et gel d'amidon, R&sultats chez des animaux normaux ou soumis à diverses expériences. [illegible]

LAMY (M.) - 1967 - Mise en évidence, par électrophorèse sur acétate de cellulose d'une protéine vitellogène dans l'hémolymphe de l'imago femelle de la Piéride du chou (*Pieris brassicae L.*) - *C. R. Acad. Sci. Fr., 265,* 990-993.

LAMY (M.) LAHARGUE (J.) et BOUNHIOL (J. J.) - 1964 - Electrophorèse sur papier de l'hémolymphe de Vers à soie soumis à diverses expériences. Modifications des protéinogrammes - *C. R. Acad. Sci. Fr., 258,* 3590-3592.

LANG (C. A.) LAV (H. Y.) et JEFFERSON (D. J.) - 1965 - Protein and nucleic acid changes during growth and aging in the mosquito [illegible]

LAUFER (H.) - 1959 - Identification and characterization of some blood proteins in the development of giant silk moths - *Ann. N. York Acad.,* [illegible]

[illegible]

LAUFER (H.) - 1960 - Studies of changes in enzymic activities of blood proteins in the developing silk moth - In *Intracell. Regul. Differ.* [illegible]

LAUFER (H.) - 1961 - Relation of egg to blood proteins in giant silk moths - In [illegible]

[illegible] - 1961 - [illegible] in insect development - *Ann. N. York Acad. Sci.,* [illegible]

LAUFER (H.) - 1963 - Antigens in insect development [illegible]

LAUFER (H.) - 1964 - Macromolecular patterns in development and evolution - *Taxonomic Biochem. Serol*, 171-189.

LAUVERJAT (S.) - 1967 - Rôle des corpora allata dans l'acquisition des caractères sexuels du corps gras chez *Locusta migratoria migratorioides R et F*, (Insecte, Orthoptère) - *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 92, 39-50.

LAVERDURE (A. M.) - 1967 - Mode d'action des corps allates au cours de la vitellogénèse chez *Tenebrio molitor* (Coléoptères) - *C. R. Acad. Sci. D. Fr.*, *265*, 145-146.

LAVERDURE (A. M.) - 1967 - Culture in vitro des ovaires de *Tenebrio molitor* (Coléoptères) Importance de la composition du milieu sur la survie, la croissance et la vitellogénèse - *C. R. Acad. Sci. D. Fr.*, *265*, 505-507.

LAVERDURE (A. M.) - 1968 - Etude, par électrophorèse en gel d'amidon, de l'évolution des protéines au cours du développement post-embryonnaire de *Tenebrio molitor* (Coléoptère) - *C. R. Acad. Sci. D. Fr.*, *267*, 1996-1998.

LECADET (M. M.) et CHEVRIER (G.) - 1966 - Les protéases de *Pieris brassicae* : mise en évidence de zymogènes - *C. R. Acad. Sci. D. Fr.*, *263*, 944-947.

LECADET (M. M.) et DEDONDER (R.) - 1966 - Les protéases de *Pieris brassicae*. I - Purification et propriétés - II -Spécificité - *Bull. Soc. Chim. Biol.*, *48*, 5, 631-691.

LEGAY (J. M.) - 1959-1960 - *"Physiologie du Ver à soie"* - *Ann. Epiphytes I. N. R. A.*, *5-5*, 501-536; 81-141.

LENDER (T.) et LAVERDURE (A. M.) - 1967 - Mode d'action des Corps allates au cours de la vitellogénèse chez *Tenebrio molitor* (Coléoptère) - *C. R. Acad. Sci. D. FR.*, *265*, 451-454.

LEONARDI (M. C.) - 1956 - The proteins of structure in the *Bombyx mori* Silkworm growth - *Rend. int. Lombardo. Sci. Pt. I.*, *90*, 573-576.

LEVENBOOK (L.) - 1950 - The composition of horse bot fly *(Gastrophilus intestinalis)* larva blood - *Biochem. J. G. B.*, *47*, 3, 336-346.

L'HELIAS (C.) - 1957 - *Action du complexe retrocérébral sur le métabolisme chez le phasme Carausius morosus* —*Thèse et Bull. Biol. Fr., Belg., Suppl. XLIV.*

L'HELIAS (C.) - 1964 - Aspects chimiques des mécanismes endocriniens chez les Insectes - *Année Biol.*,*3*, 1-2, 1-31.

LIPKE (H.) GRAINGER (M. M.) et SIAKOTOS (A. N.) - 1965 - Polysaccharide and glycoprotein formation in the Cockroach - I - Identy and titer of bound monosaccharides - *J. Biol. Chem.*, *240*, 2, 594-600.

LIU (T. P.) et DIXON (S. E.) - 1965 - Studies in the mode of action of royal jelly in honey-bee development VI Haemolymph protein changes during caste development - *Canad. J. Zool.*, *43*, 5, 873-879.

LOCKE (M.) et COLLINS (J. V.) - 1966 - Sequestration of protein by the fat body of an insect - *Nature (G. B.)*, *210*, 5035, 552-553.

LOCKE (M.) et COLLINS (J. V.) - 1968 - Protein uptake into multivesicular bodies and storage granules in the fat body of an insect - *J. Cell. Biol.*, *36*, 453-483.

LOUGHTON (B. G.) - 1965 - An investigation of haemolymph proteins in Lepidoptera - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *11*, 1651-1661.

LOUGHTON (B. G.) et WEST (A. S.) - 1965 - The development and distribution of haemolymph proteins in Lepidoptera - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*; *11*, 919-932.

LOUGHTON (B. G.) et WEST (A. S.) - 1968 - Gel filtration of insect hemolymph proteins - *Can. J. Zool.*, *46*, 4, 625-628.

LOWER (W.) - 1965 - Hormonale Kontrolle der Oocytenentwicklung bei der Henschrecke *Gomphocerus rufus L.* (Acridinae) - *Zool. Jb. Physiol. Bd.*, *71*, 8, 677-684.

LUDWIG (D.) - 1950 - Distribution of nitrogen during starvation in the grass-hopper *Chortophaga viridifasciata* - *Physiol. Zool.*, *23*, 208-213.

LUDWIG (D.) - 1954 - Changes in distribution of nitrogen in blood of Japanese Beetle *(Popillia japonica Newman)* during growth and metamorphosis - *Physiol. Zool., 27,* 334-335.

LUDWIG (D.) et WUGMEISTER (M.) - 1953 - Effects of starvation on the blood of Japanese beetle *(Popillia japonica Newman)* larvae - *Physiol. Zool., 26,* 254-259.

LUSCHER (M.) - 1958 - Hormonal control of respiration and protein synthesis in the fat body of the cockroach *Nauphoeta cinerea* during oocyte growth - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 14,* 499-511.

MACALLISTER (H. C.) WAN (Y. C.) et IRWING (J. L.) - 1963 - Electrophoresis of histones and histone fractions on polyacrylamide gels - *Analyt. Biochem., 5,* 321-329.

MALUF (N. S. R.) - 1939 - The blood of Arthropods - *Quart. Rev. Biol., 14,* 149-191.

MAMEDNIYAZOV (O. N.) KASPAR'YANTS (L. R.) et KULLYEV (P.) - 1962 - Content of nitrogen compounds in strains of silkworms varying in productivity - *Izv. Akad. Nauk. Turkm. S. S. R. Ser. Biol. Nauk, 2,* 69-73.

MANWELL (C.) - 1966 - Starch gel electrophoresis of the multiple haemoglobins of small and large larval *Chironomus*. A developmental haemoglobins sequence in an invertebrate - *J. Embryo. exp. Morph., 16,* 2, 259-270.

MARTIGNONI (M. E.) et MILSTEAD (J. E.) - 1966 - Hypoproteinemia in a Noctuid larva during the course of a granulosis - *J. Invert. Pathol. U. S. A., 8,* 2, 261-263.

MARTY (R.) et ZALTA (J. P.) - 1966 - Analyse électrophorétique en gel d'acrylamide des protéines de *Gryllus campestris* (Orthoptères, Gryllides) - *C. R. Acad. Sc. Fr., 263,* 180-182.

MARTY (R.) et ZALTA (J. P.) - 1967a - Variations interspécifiques qualitatives et quantitatives des protéines de l'hémolymphe de *Cophopodisma pyrenae* (Fisch) (Orthoptère, Catantopidae) en fonction des aires biogéographiques - *C. R. Acad. Sci. Fr., 264,* 643-646.

MARTY (R.) et ZALTA (J. P.) - 1967b - Analyse électrophorétique comparée en gels de polyacrylamide des protéines de *Locusta migratoria L.* et du mutant albinos correspondant. *C. R. Acad. Sci. Fr., 264,* 2051-2054.

MARTY (R.) et ZALTA (J. P.) - 1968 - Significations possibles des variations protéiniques de l'hémolymphe des Orthoptères, analysée par électrophorèse en gel de polyacrylamide - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 14,* 861-868.

MAYER (R. J.) et CANDY (D. J.) - 1967 - Changes in haemolymph lipoproteins during locust flight - *Nature (G. B.), 215,* 5104-987.

McCORMICK (F. W.) et SCOTT (A.) - 1966 - A protein fraction in locust hemolymph associated with the moulting cycle - *Experientia, 22,* 4, 228-229.

McCORMICK (F. W.) et SCOTT (A.) - 1966 - Changes in haemolymph proteins in first instar locusts - *Arch. intern. Physiol. Biochem. 74,* 3, 442-448.

MENON (M.) - 1963 - Endocrine influences on protein and fat in the hemolymph of the cockroach *Periplaneta americana* - *Proc. 16 th. int. Cong. Zool., 1,* 297.

MINKS (A. K.) - 1965 - Hemolymph protein and amino-acid composition as influenced by the corpus allatum in *Locusta migratoria migratorioides (R et F)* - *Proc. NKL. Nederl. Akad. (Van Wenenschappen-AMSTERDAM, (C.), 68,* 320-323.

MINKS (A. K.) - 1967 - Biochemical aspects of juvenile hormone action in the adult *Locusta migratoria* - *Arch. Neerland. Zool., 27,* 2, 175-258.

MISSELIJN (G.) KARCHER (D.) DE KEYSER (F.) et VAN SANDE (M.) - 1959 - Studies on hemolymph proteins of insects of medical importance by means of micro-electrophorese in agar - *Protides of the biological fluids. Proc. of the VII th. Coll. BRUGES - Elsevier - AMSTERDAM,* 127-133.

MITLIN (N.) LUSK (G. J.) et WIYGUL (G.) - 1967 - An electrophoretic study of the changes in proteins in the haemolymph during the life cycle of the Boll Weevil, *Anthonomus grandis* (Coleoptera, Curculionidae) *Ann. Entomol. Soc. Amer., 60,* 6, 1155-1158.

MOKLOWSKA (A.) - 1929 - Chemical composition of the hemolymph of *Deilephila euphorbiae* larvae - *Acta Biol. Exptl. W.*, *3*, 241-253.

MORAN (M. R.) - 1959 - Changes in the distribution of nitrogen during metamorphosis of the mealworm, *Tenebrio molitor L.* - *J. N. Y. Entomol. Soc.*, *67*, 217-222.

MORDUE (W.) - 1965 - Neuro-endocrine factors in the control of oocyte production in *Tenebrio molitor L.* - *J. Insect. Physiol.*, *11*, 617-629.

MULLER-BEISSENHIRTZ (W.) et KELLER (H.) - 1966 - Immunoelektrophorese auf Cellogel Streifen - *Clin. Chim. Acta*, *13*, 95-99.

NAKAJIMA (S.) - 1926 - Some chemical investigations on *Bombyx mori*. II - Quantitative changes of cystine, tryptoplan and tyrosine in proteins of silkworms - *Bull. Sci. Fakultato Terkultura, Kjusu Imp. Uni.*, *2*, 20-32.

NAKASONE (S.) et KOBAYASHI (M.) - 1965 - Acrylamide gel electrophoresis of blood protein during the moulting and the metamorphosis in the silkworm *Bombyx mori L.*-*J. Sericult. Sci. Japan*, *34*, 257-262.

NEEDHAM (D. M.) - 1929 - The chemical changes during the metamorphosis of insects - *Biol. Rev.*, *4*, 307-326.

NIELSEN (D. J.) et MILLS (R. M.) - 1968 - Changes in electrophoretic properties of haemolymph and terminal oöcyte proteins during vitellogenesis in the american cockroach - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *14*, 163-170.

NIEMIERKO (W.) et CEPELEWICZ (S.) - 1950 - Biochemistry of the wax moth *(Galleria mellonella)* - *Acta Biol. Exptl. (Poland)*, *15*, 57-123.

NOWOSIELSKI (J. W.) et PATTON (R. L.) - 1965 - Variation in the haemolymph protein, amino acid and lipid levels in adult house crickets, *Acheta domesticus L.* of different ages - *J. Insect Physiol. (G. B.* *11*, 263-270.

O'CONNOR (R.) et ERICKSON (R.) - 1965 - Hymenoptera antigens : an immunological comparison of venoms, venom sac extracts and whole-insect extracts - *Ann. Allergy. U. S. A.*, *23*, 3, 151-157.

O'CONNOR (R.) ROSENBROOK (W. J.) et ERICKSON (R.) - 1964 - Disc electrophoresis of hymenoptera venoms and body proteins - *Science*, *145*, 1320-1321.

ODA (J.) - 1956 - Studies on the proteins of insect hemolymph. II - Sedimentation constants, diffusion constants and molecular weight of the two isolated proteins - *Nippon. Nogei. Kagaku Kaishi*, *30*, 345-347.

ODA (J.) - 1957 - Studies on the proteins of insect hemolymph : III - Fractionation of protein in silkworm hemolymph - IV - Association and dissociation system.*Nippon Nôgei. Kagaku Kaishi*, *31*, 748-754, 754-758.

ODA (J.) - 1959 - Studies of the proteins of insect hemolymph : V - Association and dissociation - VI - Salting-our behaviour - VII - Heat denaturation - VIII - Electrophoretic behavior in acid solutions - IX - Chromatography on calcium phosphate colums - X - Fractionation with calcium phosphate - *Nippon Nôgei Kagaku Kaishi*, *33*, 845-849, 850-853, 853-856, 961-965, 965-971, 971-975.

ODA (J.) HAYASHI (K.) et SASAKI (S.) - 1956 - Studies on the proteins of insect hemolymph. I - Protein constituents in silkworm hemolymph - *Nippon Nôgei Kagaku Kaishi*, *30*, 342-345.

OHI (Y.) - 1961 - Paper-electrophoretic studies on the blood-serum protein of some lower animals - *Igaku to Seibutsugaku*, *60*, 2, 56-61.

ONESSO (E.) BIONDI (H.) et PIEROBON (P.) - 1966 - Electrophoretic analysis of *Dolichopoda geniculata* hemolymph proteins during various larval stages - *Rend. Accad. Sci. Fis. Mat.*, *33*, 153-162.

ORNSTEIN (L.) - 1962 - *"Disc electrophoresis. I. - Theory"* - Reprinted by Distillation products industries.

ORNSTEIN (L.) et DAVIS (B. J.) - 1962 - *Disc electrophoresis* - Reprinted prior to journal publication for Canalco-Bethesda, Maryland.

ORR (C. W. M.) - 1964 - The influence of nutritional and hormonal factors on egg development in the blowfly *Phormia regina (Meig.)* - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *10*, 53-64.

ORR (C. W. M.) - 1964 - The influence of nutritional and hormonal factors on the chemistry of the fat body, blood and ovaries of the blowfly *Phormia regina* (Meig.) - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *10*, 103-119.

OSBORNE (D. J.) CARLISLE (D. B.) et ELLIS (P. E.) - 1968 - Protein synthesis in the fat body of the female desert locust, *Schistocerca gregaria*, in relation to maturation - *Gen. Comp. Endoc.*, *11*, 347-354.

OUCHTERLONY (O.) - 1958 - Diffusion in gel methods for immunological analysis - *Progr. in Allergy*, *5*, 1-78.

PANTELOURIS (E. M.) et DUKE (E. J.) - 1963 - The inheritance of lymph proteins in *Drosophila* - *Genet. Res.*, *4*, 441-445.

PAUL (J.) - 1961 - *Cell and tissue culture* - E. S. LIVINGSTONE LTD, EDINBURG AND LONDON.

PETERSON (E. A.) et SOBER (H. A.) - 1956 - Chromatography of protein-I-Cellulose ion-exchange adsorbents - *J. Am. Chem. Soc.*, *78*, 751-755.

PICK (F.) - 1956 - Recherches électrophorétiques sur l'hémolymphe des Réduvides hématophages - *C. R. Acad. Sc. Fr.*, *242*, 564-565.

PIECHOWSKA (M. J.) - 1965 - Effect of ionizing radiation on the endocrine system in Insects - *Bull. Acad. Polon. Sc. Ser. Sc. Biol.*, *13*, 3, 139-144.

PO-CHEDLEY (D. S.) - 1959 - Electrophoretic patterns of Mealworm proteins - *Nature (G. B.)*, *183*, 1-62.

POULIK (M. D.) - 1957 - Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers - *Nature (G. B.)*, *180*, 1477-1479.

POULIK (M. D.) - 1959 - Starch-gel immunoelectrophoresis - *J. Immunol.*, *82*, 502-515.

POULIK (M. D.) - 1964 - Starch gel immunoelectrophoresis - *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, *121*, 470-483.

PRICE (G. M.) - 1966 - The in vitro incorporation of (U- 14 C) valine into fat body protein of the larva of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *12*, 731-740.

PRICE (G. M.) - 1967 - The effect of different ions on the incorporation of (U-14 C) valine into fat body protein of the larva of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* - *J. Insect. Physiol., (G. B.)*, *13*, 69-79.

PRICE (G. M.) et BOSMAN (T.) - 1966 - The electrophoretic separation of proteins isolated from the larva of the blowfly *Calliphora erythrocephala* - *J. Insect. Physiol., (G. B.)*, *12*, 741-745.

PUSCHMANN (S.) - 1961 - Biochemische Untersuchungen an sensiblen und D. D. T. - resistenten Stammën von *Drosophila melanogaster* - *Z. Angew. Zool. Dtsch.*, *48*, 2, 199-214.

RAPER (R.) et SHAW (J.) - 1948 - Amino-acids in the hoemolymph of the Drayon-fly Nymph, *Aeschna cyanea* - *Nature*, *162*, 999.

RAPP (J. L. C.) - 1947 - Insect hemolymph a review - *J. N. Y. Entomol. Soc.*, *55*, 295-308.

RAYMOND (S.) et WEINTRAUB (L.) - 1959 - Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis - *Science*, *130*, 711?

RAZET (P.) - 1966 - Les éléments terminaux du catabolisme azoté chez les Insectes - *Année Biol.*, *5*, 1-2, 43-73.

REALI (G.) - 1955 - Studi sull'emolinfa degli insetti - I - Il potere tampone in larve di *Bombyx mori* di IVe, Ve età - *Ann. Fac. Agri., Univ. Studi. MILANO*, *4*, 43-55.

REALI (G.) - 1955 - Studi sull'emolinfa degli insetti - II - Ricerche sulle proteine in larve di *Bombyx mori* di IVe, Ve età mediante electroforesi su carta - *Boll. Zool. Agrar. e Bachicolt. Univ. Studi MILANO*, *21*, 185-188.

REISFELD (R. A.) LEWIS (U. J.) et WILLIAMS (D. E.) - 1962 - Disc electrophoresis of basic proteins and peptides on Poly-acrylamid gels - *Nature*, *195*, 281-283.

ROSEDALE (J. L.) - 1945 - Insect metabolism - *J. S. African Chem. Inst.*, *28*, 3-9.

ROTH (T. F.) et PORTER (K. R.) - 1964 - Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes Aegypti* *J. Cell. Biol.*, *20*, 313-332.

ROY (J. C.) - 1962 - *Contribution à l'étude des possibilités de transformation imaginale de portions isolées de nymphes chez Bombyx mori* - D. E. S. de Sciences Nat., BORDEAUX.

RUDOLFS (W.) - 1926 - Studies on chemical changes during the life of the tent caterpillar *(Malacosoma americana Fab.)*, II - Nitrogen and its relation to moisture and fat - *Jal. N. Y. Entomol. Soc. 34*, 319-330.

SALKELD (E. H.) - 1965 - Electrophoretic separation and identification of esterases in eggs and young nymphs of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus (Dallas)* - *Canad. J. Zool., 43*, 593-602

SANDE VAN (M.) et KARCHER (D.) - 1960 - Species differentiation of insects by haemolymph electrophoresis *Science, 131*, 1103-1104.

SAPAG-HAGAR (M.) et STAMM-MENENDEZ (M. P.) - 1961 - Estudio sobre bioquimica di insectos - X - Datos sobre el metabolismo protidico en la metamorfosis de la *Calliphora erythrocephala* - *Rev. Esp. Fisiol., 17*, 115-130.

SAUERLANDER (S.) et EHRARDT (P.) - 1961 - Reduzierung der Proteinfraktionen in der Hämolymphe bakterien-Kranker Blattiden - *Naturwissenschaften Dtsch., 48*, 21, 674-675.

SCHMIDI (G. H.) - 1965 - Elektrophoretische Fraktionierung der Hamolymphe-proteine warhend der Metamorphose von *Formica polyctena F.* (Hymenoptera) - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 11*, 71-77.

SCHULZ (F. N.) - 1925 - in *Hans Winterstein's Handbuck der Vergleichenden Physiologie.* (Gustav Fischer Verlag, JENA, Germany) - *1* - 747-812. in G. R. WYATT 1961.

SEAMAN (G. R.) et ROBERT (N. L.) - 1968 - Immunological response of male cockroaches to injection of *Tetrahymena pyriformis* - *Science, 161*, 3848, 1359-1361.

SERIE (CH.) OVAZZA (M.) et GUTFREUND (R.) - 1956 - Microélectrophorèse de l'hémolymphe du Pou *(Pediculus humanus)* - *Bull. Soc. Pathol. Exot. Fr., 49*, 5, 831-837.

SHIGEMATSU (H.) - 1958 - Synthesis of blood-protein by the fat body in the silkworm *Bombyx mori L.* - *Nature (G. B.), 182*, 880-882.

SHIGEMATSU (H.) - 1960 - Protein metabolism in the fat body of the silkworm, *Bombyx mori L.* - *Bull. Sericult. Exp. Sta., 16*, 4, 141-170.

SIAKOTOS (A. N.) - 1959 - An investigation of the conjugated plasma proteins of the american cockroach - *Dissert. Abstr. U. S. A., 19*, 9, 2377.

SIAKOTOS (A. N.) - 1960 - The conjugated plasma proteins of the American cockroach - I - the normal stade - *J. Gen. Physiol., 43*, 999-1013.

SIAKOTOS (A. N.) - The conjugated plasma proteins of the american cockroach - II - Changes during the moulting and clotting process - *J. Gen. Physiol., 43*, 1015-1030.

SLAMA (K.) - 1964 - Hormonal control of haemolymph protein concentration in the adult of *Pyrrhocoris apterus L.* (Hemiptera) - *J. Insect. Physiol. (G. B.), 10*, 773-782.

SMITHIES (O.) - 1955 - Zone electrophoresis in starch gels ; group variations in serum proteins of normal human adults - *Biochem. J, 61*, 629-641.

SMITHIES (O.) - 1959 - An improved procedure for starch-gel electrophoresis ; further variations in the serum proteins of normal individuals - *Biochem. J., 71*, 585-587.

SOLODOVNIKOVA (O. I.) - 1967 - Role of the fatty tissue in the development cycle of synantropic flies- *Zool. Zh. S. S. S. R., 46*, 2, 296-299.

SRIDHARA (S.) et ANANTHASAMY (T. S.) - 1963 - Blood proteins of the silkworm *Bombyx mori L.* - *Proc. Indian. Acad. Sci. (B.), 58*, 1, 19-27.

STAMM (M. D.) - 1962 - Estudio sobre bioquimica de insectos - XVI - Algunos datos sobre el metabolismo de *Malacosoma neustria* - *Rev. Esp. Fisiol., 18*, 2, 53-58.

STAMM (M. D.) - 1963 - Estudios sobre bioquimica de insectos. XVIII - Datos sobre el metabolismo protidico en la abeja comùun *(Apis mellifica)* - *R. Esp. Fisiol., 19*, 4, 173-176.

STAMM (M. D.) - 1964 - Proteinas solubles en algunos insectos - *R. Esp. Fisiol., 20*, 2, 39-41.

STAMM (M. D.) et ALVAREZ (J.) - 1963 - Estudios sobre bioquimica de insectos. XVII - Datos sobre el metabolismo protidico en el himenoptero *Polistes gallicus* - *Rev. Esp. Fisiol., 19*, 4, 169-172.

STECHE (O.) - 1913 - *Verh. Dtsch. Zool. Ges., 23*, 272-281, in V. B. WIGGLESWORTH 1953.

STEINHAUER (A. L.) - 1958 - Factors affecting the protein and free animo acid composition of blood of the american cockroach, *Periplaneta americana L.* - *Dissert. Abstr. U. S. A., 19*, 4, 917-918.

STEINHAUER (A. L.) et STEPHEN (W. P.) - 1959 - Changes in blood proteins during the development of the american cockroach, *Periplaneta americana* - *Ann. Entomol. Soc. Amer., 52*, 6, 733-738.

STEPHEN (W. P.) - 1956 - (paru 1958) - Hemolymph proteins and their use in taxonomic studies - *Proc. 10 th. Congr. Ent., 1*, 395-400.

STEPHEN (W. P.) - 1961 - Phylogenetic significance of blood proteins among some orthopteroïd. insects - *Syst. Zool., U. S. A., 10*, 1, 1-9.

STEPHEN (W. P.) et STEINHAUER (A. L.) - 1957 - Sexual and development differences in insect blood proteins - *Physiol. Zool. U. S. A., 30*, 2, 114-120.

STRANGWAY-DIXON (J.) - 1962 - The relationship between nutrition, hormones and reproduction in the blowfly *Calliphora erythrocephala (M.)* - III - The corpus allatum in relation to nutrition, the ovaries innervation and the corpus cardiacum - *J. Exp. Biol., 39*, 293-306.

STRICKLAND (R. D.) - 1964 - Electrophoresis - *Anal. Chem., 36*, 5, 80-92.

SYSAKYAN (N. M.) et VEINOVA (M. K.) - 1955 - The nature of proteins of the cavitary fluid of pupae of *Bombyx mori* - *Doklady Akad. Nank S. S. S. R., 101*, 531-534.

SYSAKYAN (N. M.) et VEINOVA (M. K.) - 1958 - The complex isolated from the coelomic fluid of pupae of *Bombyx mori* - *Biokh., 23*, 1, 52-58.

TAKAHASHI (S.) - 1964 - Nitrogen and free amino acids in the haemolymph of the *Philosamia* - Pupae induced to diapause by brain extirpation - *Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto. B., 30*, 3, 1-8.

TANAKA (S.) et SHIMIZU (I.) - 1957 - Relation between the refractive index and the nitrogen content in the blood of the silkworm - *Nippon Sans. Zasshi, 26*, 50-52.

TASSONI (J. P.) - 1957 - The nitrogen and p-osphorus content of insect protein - *Physiol. Zool., 30*, 128-132.

TATSUYAMA (K.) et MIURA (T.) - 1959 - Proteins detected by paper electrophoresis in the blood of larvae of rice-stem borer - *Shimane Noka Daigaku KenKyu Hokoku, 7*, 85-86.

TELFER (W. H.) - 1954 - Immunological studies of insect metamorphosis - II - The role of a sex-limited blood protein in egg formation by the *Cecropia* silkworm - *J. Gen. Physiol., 37*, 539-558.

TELFER (W. H.) - 1960 - The selective accumulation of blood proteins by the oocytes of saturniid moths - *Biol. Bull., 118*, 2, 338-351.

TELFER (W. H.) - 1961 - The route of entry and localization of blood protein in the oocytes of saturniid moths - *J. Biochem. Biophys. Cytol. U. S. A., 9*, 4, 747-759.

TELFER (W. H.) - 1965 - Mecanism and control of yolk formation - *Ann. Rev. Entomol. U. S. A., 10*, 161-184.

TELFER (W. H.) et WILLIAMS (C. M.) - 1953 - Immunological studies of insect metamorphosis - I - Qualitative and quantitative description of the blood of the *Cecropia* silkworm - *J. Gen. PhysioL, 36*, 389-413.

TEOTIA (T. P. S.) et PANT (C. P.) - 1962 - Composition and biosynthesis of silk - *Indian Journal of sericulture, 1*, 1, 27-28.

TERANDO (M. L.) - 1967 - Proteins in the hemolymph of *Oncopeltus fasciatus* - *Dissert. Abstr. B. U. S. A., 27*, 10, 3722.

TERANDO (M. L.) et FEIR (D.) - 1965 - Immunoelectrophoretic study of insect hemolymph - *Am. Zool.*, *5*, 678.

TERANDO (M. L.) et FEIR (D.) - 1966 - Protein [illegible] in the hemolymph of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) - *Comp. Biochem. Physiol.*, *18*, 163-168.

TERANDO (M. L.) et FEIR (D.) - [illegible] from the hemolymph of the large milkweed bug, *Oncopeltus* [illegible] *Comp. Biochem. Physiol.*, *20*, 431-436.

TERANDO (M. L.) et FEIR (D.) - 1967 - Immunoelectrophoresis [illegible] in the hemolymph of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) - *Comp. Biochem. Physiol.*, *(G. B.)*, *21*, 1, 31-38.

THOMAS (K. K.) - 1965 - Biochemical studies on the effects of allatectomy in the cockroach, *Periplaneta americana* L. - *Dissert. Abstr. U. S. A.*, *26*, 2, 1241.

THOMAS (K. K.) et GILBERT (L. I.) - 1968 - Isolation and characterization of hemolymph lipoproteins of the american silkmoth, *Hyalophora cecropia* - *Arch. Biochem. Biophys. 127*, 1-3, 512-521.

THOMAS (K. K.) et NATION (J. L.) - 1965 - Control of a sex-limited haemolymph protein by corpora allata during ovarian development in *Periplaneta americana* L. - *Biol. Bull. U. S. A.*, *130*, 2, 254-264.

THOMAS (K. K.) et NATION (J. L.) - 1966 - RNA, protein and uric acid content of body tisses of *Periplaneta americana* L. as influenced by corpora allata during ovarian development - *Biol. Bull. U. S. A.*, *130*, 3, 442-449.

TIMON-DAVID (J.) - 1940 - Fragments de biochimie entomologique. Hormones et milieu intérieur chez les Insectes . *Ann. Fac. Sci. MARSEILLE 13*, 237-308.

TIMON-DAVID (J.) - 1945 - Le milieu intérieur des Insectes - *Année Biol.*, *49*, 133-154.

TISELIUS (A.) - 1937 - A new apparatus for electrophoretic analysis of colloïdal mixtures - *Trans. Faraday. Soc.*, *33*, 524-531.

TOBE (S. S.) et LOUGHTON (B. G.) - 1967 - The development of blood proteins in the african migratory locust - *Comp. J. Comp.*, *15*, 6, 973-984.

TODD (M. E.) - 1958 - Blood composition of the cockroach, *Leucophaea maderae Fahicius* - *NEW-YORK, Entomol. Soc.*, *66*, 133-143.

TSUJITA (M.) et SAKURAI (S.) - 1963 - Specific protein combining with yellow pigments (dihydropteridine) in the silkworm, *Bombyx mori* - *Proc. Japan, Acad.*, *39*, 4, 247-252.

VALETTE (G.) et HUIDOBRO (H.) - 1954 - Pouvoir histaminolibérateur du venin de la Chenille processionnaire du Pin *(Thaumetopoea pityocampa Schiff)* - *C. R. Soc. Biol.*, *148*, 1605-1607.

VALETTE (G.) et HUIDOBRO (H.) - 1956 - Pouvoir histaminolibérateur du venin de la Chenille processionnaire du Pin *(Thaumetopoea pityocampa Schiff)* - *C. R. Soc. Biol.*, *150*, 658-661.

VANDERBERG (J. P.) - 1965 - The role of gonadotropic hormone in the synthesis of protein and RNA in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) - *Biol. Bull.*, *123*, 576-581.

VAN DER GEEST (L. P. S.) - 1968 - Effect of diets on the haemolymph proteins of larvae of *Pieris brassicae* - *J. Insect. Physiol.*, *(G. B.)*, *14*, 537-542.

VASIL'EVA (N. V.) - 1958 - Study of protein metabolism in the oak tree silkworm with the aid of labeled methionine - *Uchenye Zapioki Moskov-Gosudarst Pedagog. Inst.*, *40*, 63-146.

WALKER (P. A.) - 1965 - The structure of the fat body in normal and starved cockroaches as seen with the electron microscope - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *11*, 1625-1631.

WALKER (P. A.) - 1966 - An electron microscope study of the fat body of the moth *Philosamia* during growth and metamorphosis - *J. Insect. Physiol. (G. B.)*, *12*, 1009-1018.

WANG (C. M.) et PATTON (R. L.) - 1968 - The separation and characterization of the haemolymph proteins of several insects - *J. Insect. Physiol.*, *(G. B.)*, *14*, 1069-1075.

WATANABE (H.) - 1967 - Protein synthesis in the tissues of the Silkworm *Bombyx mori* infected with nuclear polyhedrosis virus - *J. Invert. Pathol. U. S. A., 9*, 3, 428-429.

WATANABE (H.) - 1967 - Electrophoretic separation of the hemolymph proteins in the fall webworm, *Hyphantria cunea*, infected with a nuclear polyhidrosis virus - *J. Invert. Pathol., 9*, 4, 570-571.

WELCH (P. S.) - 1928 - The physiology of Insect metabolism - *Ann. Entomol. Soc., 21*, 476-488.

WHITTAKER (J. R.) et WEST (A. S.) - 1962 - A starch gel electrophoretic study of insect hemolymph protein - *Canad. J. Zool., 40*, 4, 655-671.

WIEME (R. J.) et RABAYE (M.) - 1957 - A new technique for quantitative ultramicroelectrophoresis - *Naturwiss. Dtsch., 5*, 112-113.

WIGGLESWORTH (V. B.) - 1939 - *The principles of insect physiology* - 1939, 1944, 1947, 1950, 1953 ... E. P. DUTTON and Co - NEW-YORK, METHUEN and Co- LONDON.

WIGGLESWORTH (V. B.) - 1967 - Cytological changes in the fat body of *Rhodnius* during starvation, feeding and oxygen want - *J. Cell. Sci., 2*, 243-256.

WIMER (L. T.) - 1963 - Biochemical changes associated with growth and development of the larval blowfly, *Phormia regina* - *Univ. Microfilms, Order n° 64-734, Dissertation Abstr., 24*, 2631-2632.

WRIGHT (C. A. et ROSS (G. C.) - 1965 - Electrophoretic studies of some planorbid egg proteins - *Bull. Org. Mond. Santé, 32*, 709-712.

WUNDERLY (CH.) - 1956 - *Electrophorèse sur papier - Méthodes et résultats* - Vigot. PARIS.

WUNDERLY (CH.) - 1957 - Die Immunoelektrophorese in Agar-Gel. Methode und Ergebnisse - *Experientia-Suisse, 13*, 421-434.

WUNDERLY (CH.) et GLOOR (H.) - 1953 - Versuche zur charakterisierung der larvalen Blutproteine normaler und letaler genotypen von *Drosophila* mittels Papier - Elektrophorese - *Protoplasma, 42*, 273-282.

WYATT (G. R.) - 1961 - The biochemistry of insect hemolymph - *Ann. Rev. Entomol. U. S. A., 6*, 75-102.

WYATT (G. R.) LONGHEED (T. C.) et WYATT (S. S.) - 1956 - The chemistry of insect hemolymph : organic compo sents of hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori L.* and two others species - *J. Gen. Physiol. U. S. A., 39*, 6, 853-868.

WYSS-HUBER (M.) et LUSCHER (M.) - 1966 - Uber die hormonale Beeinflussbarkeit der Proteinsynthese in vitro im Fattkörper von *Leucophaea maderae* (Insecta) - *Rev. Suisse Zool., 73*, 3, 517-521.

ZAMEN (V.) et CHELLAPPAH (W. T.) - 1963 - Gel-diffusion studies with mosquito (Diptera : culicidae) I - Antigenic analysis during metamorphosis - *Exp. Paras., 13*, 108-112.

ZELEDON -R.) et MORUA (E. I.) - 1963 - Analisis electroforetico de la hemolinfa de algunas especies de triatominos (Hemiptera : reduviidae) - *Rev. Biol., Trop., COSTA RICA, 11*, 2, 185-195.

ZIELINSKA (Z. M.) - 1952 - The biochemistry of the wax moth *(Galleria mellonella)*. VIII - Nitrogen metabolism of the larvae - *Acta Biol., Expl. (Lodz), 16*, 171-186.

ZIELINSKA (Z. M.) - 1957 - The biochemistry of the wax moth *(Galleria mellonella)*. XVII - Nitrogen metabolism in the tissue and organs of the larvae - *Acta Biol., Expl. (Lodz), 17*, 351-371.

ZIELINSKA (Z. M.) et WRONISZEWSKA (A.) - 1957 - Biochemistry of the wax moth *(Galleria mellonella)*. XVI - Weight of tissues and organs during starvation of the larvae - *Acta Biol. Exp. (Lodz), 17*, 345-349.

Vu et approuvé
BORDEAUX, le
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. V A L A D E

Président du Conseil Transitoire de Gestion